

Aus der Urologischen Universitätsklinik
(Direktor: Prof. Dr. C. F. Rothauge)
der Justus-Liebig-Universität Giessen/Lahn

Experimentelle Untersuchung des Stoffwechsels der ischaemischen Niere und seine Bedeutung für die Nierentransplantation

Habilitationsschrift zur Erlangung der
VENIA LEGENDI an der Medizinischen
Fakultät der Justus-Liebig-Universität

vorgelegt von
R. Voss
aus Salchendorf

1973
-

Experimentelle Untersuchung des Stoffwechsels der ischaemischen Niere und seine Bedeutung für die Nierentransplantation

Habilitationsschrift zur Erlangung der
VENIA LEGENDI an der Medizinischen
Fakultät der Justus-Liebig-Universität

vorgelegt von

R. Voss

aus Salchendorf

Die Nierentransplantation
an Mensch und Tier
von Dr. med. R. Voss

Experimentelle Untersuchung des Stoffwechsels
an ischiämischen Niere und seine Bedeutung
für die Nierentransplantation

Habilitationsschrift zur Erlangung der
VENIA LEGENDI an der Medizinischen
Fakultät der Julius-Maximilians-Universität



verlegt von
R. Voss
aus Dordrecht

Inhaltsangabe

I. <u>Einleitung</u>	1
II. <u>Stoffwechsel der Niere</u>	
a) Sauerstoff-Verbrauch und Durchblutung	3
b) Aktive Transportmechanismen der Niere	6
III. <u>Methodik</u>	
1. Experimentelles Vorgehen zur Bestimmung der Substrate in der Kaninchenniere	8
2. Experimentelles Vorgehen zur Bestimmung der Substrate in der Hunde- und Menschenniere	8
3. Methodik zur Bestimmung der Substrate	9
4. Kritik der Methodik	15
5. Operatives Vorgehen zur Nierentransplantation	16
IV. <u>Stoffwechseluntersuchungen der Niere</u>	
a) Stationäre Konzentrationen energiereicher P-Verbindungen in der Nierenrinde	20
b) Das Verhalten der Adenin-Nukleotide nach Sauerstoffentzug in der Nierenrinde	23
V. <u>Elektronenmikroskopische Befunde an der Nierenrinde vor und während der Ischaemie</u>	34
VI. <u>Stoffwechseluntersuchungen der Nierentransplantate</u>	
a) Pharmakologische Vorbehandlung zur Verbesserung der Energiebereitstellung in den Transplantaten	46
b) Bestimmung der Adenin-Nukleotide in der Nierenrinde vor, während und nach der Transplantation	52
c) Überlebenszeit und Funktion der Transplantate nach pharmakologischer Vorbehandlung	65
VII. <u>Bedeutung der Lokalisation der Transplantate</u>	75
VIII. <u>Folgerungen für die Nierentransplantation</u>	88
IX. <u>Zusammenfassung</u>	92
X. <u>Literaturverzeichnis</u>	94

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

ÜBZ	=	Überlebenszeit
WBZ	=	Wiederbelebenszeit
HVL	=	Hypophysenvorderlappen
ATP	=	Adenosin-5' - tri - phosphat
ADP	=	Adenosin-5' - di - phosphat
AMP	=	Adenosin-5' - mono - phosphat
PKr	=	Phosphokreatin
Pa	=	anorganisches Phosphat
MS	=	Milchsäure (Lactat)
BTS	=	Brenztraubensäure (Pyruvat)
DPNH	=	Diphospho-pyridin-nucleotid reduziert
TPNH	=	Triphospho-pyridin-nucleotid reduziert
NAD	=	Nicotinamid-adenin-dinucleotid = DPN
NADP	=	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat = TPN
TSH	=	Thyreotropes Hormon
mMol	=	Millimol = 10^{-3} Mol
μ Mol	=	Mikromol = 10^{-6} Mol
nMol	=	Nanomol = 10^{-9} Mol
nm	=	Nanometer = 10^{-9} m
GTP	=	Guanin-tri-phosphat
GDP	=	Guanin-di-phosphat
GMP	=	Guanin-mono-phosphat
UTP	=	Uridin-tri-phosphat
UDP	=	Uridin-di-phosphat
UMP	=	Uridin-mono-phosphat
IMP	=	Inosin-mono-phosphat

I. Einleitung.

Um die Jahrhundertwende erfolgte der erste ernsthafte Versuch einer Nierentransplantation im Tierexperiment. Die erste Beschreibung der Homoitransplantation einer Hundeniere in die fossa renalis verdanken wir DECASTELLO aus dem Jahre 1899.

ULLMANN, STICH und CARREL, um nur einige der bedeutendsten Pioniere in der Transplantations-Chirurgie in chronologischer Reihenfolge zu nennen, führten bald darauf umfangreiche Versuche durch, teilweise mit erstaunlich guten Ergebnissen, obgleich ihnen immunbiologische Vorgänge unbekannt waren.

AVRAMOVICI (1924) versuchte durch Unterkühlung der Niere die Ergebnisse der Transplantation zu verbessern. Ähnlich experimentierten QUODOT (1948) und LEFEBVRE (1948). Ersterer unterkühlte die Spenderniere auf 4°C . Die Transplantation führte er nach 8 Tagen Unterkühlung durch. Beim Wiederanschluß der Niere kam es zu einer sofortigen Infarzierung des Organs. LEFEBVRE durchspülte die Niere mit einer Kühlflüssigkeit und lagerte sie bei tiefer Temperatur. Nach einer Ischaemiezeit von 24 Stunden nahmen die Nieren zeitlich begrenzt ihre Funktion wieder auf.

Ende der 50 er Jahre erschienen die technischen Probleme der Nierentransplantation gelöst. Nach den Untersuchungen von MEDAWAR (1944, 1945) erkannte man, daß der zeitlich begrenzte Erfolg der Homoitransplantation als Folge einer Antigen-Antikörperreaktion anzusehen war. Die immunbiologische Barriere ist bis heute nicht überwunden. Seit den Versuchen von PERSKY und JAKOBS (1951), mit Cortison und ACTH die Abwehrreaktionen zu beeinflussen, befaßt sich die heutige Transplantationsforschung vorwiegend mit dem Ziel die immunbiologische Schranke zu überwinden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es die Stoffwechseleränderungen in der Niere nach Sauerstoffentzug zu untersuchen, da sie während der Transplantation zwangsläufig einer Ischaemie unterworfen werden muß. Wir haben am Herzmuskel die Veränderungen der Adenin-Nukleotide bei Sauerstoffmangel bestimmt. Generell kommt es während der Anaerobiose zu einem Abfall des Energiepotentials. Durch eine Vorbehandlung mit anorganischem Jod (Endojodin) [®] und Dipyridamol (Persantin) [®]

gelang es das Ausmaß des Energiedefizits zu vermindern. Es schien daher von Interesse, die am Myocard erhobenen Befunde mit den Metabolitveränderungen in der Nierenrinde während der Ischaemie zu vergleichen. Gleichzeitig versuchten wir in der Nierenrinde durch eine pharmakologische Vorbehandlung die ischaemiebedingte energetische Insuffizienz zu beeinflussen, zumal in der Literatur darüber keine Untersuchungsergebnisse vorliegen.

Aus diesem Grunde schien es erforderlich:

1. die realen Metabolitgehalte der energiereichen Phosphorverbindungen in der Nierenrinde bei verschiedenen Tierspezies und beim Menschen zu ermitteln.
2. das Verhalten dieser Metabolite während der Ischaemie und unter Transplantationsbedingungen zu studieren und festzustellen, über welchen Zeitraum die Niere eine Ischaemie tolerieren kann.
3. die biochemischen Untersuchungen durch morphologische Befunde zu ergänzen.
4. die biochemischen Veränderungen in den Spendernieren, ohne und nach pharmakologischer Vorbehandlung, während der Ischaemie und nach Wiederanschluß an das Gefäßsystem zu untersuchen.
5. die Überlebenszeiten und die Funktion der Transplantate zu bestimmen. Dabei war zu diskutieren, ob der Stoffwechsel der Transplantate den Zeitpunkt und das Ausmaß der immunbiologischen Reaktionen beeinflussen kann.
6. die beste Lokalisation der Transplantate mit Hilfe angiographischer Untersuchungen zu eruieren.

Vor den eigenen Versuchen werden Sauerstoffverbrauch der Niere im Vergleich zu Herzmuskel und Gehirn und die aktiven Transportmechanismen in der Nierenrinde kurz skizziert.

II. Stoffwechsel der Niere

a) Sauerstoffverbrauch und Durchblutung

Die Wiederbelebenszeit eines Organs wird von seiner Stoffwechselaktivität bestimmt. Es besteht eine direkte Korrelation zwischen dem Sauerstoffverbrauch und der Länge der Wiederbelebenszeit. Der Sauerstoffverbrauch der Niere wird mit $5,5 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ angegeben. Vergleichsweise beträgt demgegenüber der Sauerstoffverbrauch des Gehirns $3,2 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, der Hirnrinde $5,0 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, des Herzens $7,0 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

Neben dem Sauerstoffverbrauch spielen für die Stoffwechselaktivität die Durchblutung und die Ausnutzung des Sauerstoffs eine entscheidende Rolle. Die Durchblutung der Niere liegt mit $380 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ weit über der des Herzens ($65 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) und des Gehirns ($55 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). Dagegen ist die arteriovenöse O_2 -Differenz der Niere mit $1,5 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ deutlich niedriger als die des Herzens ($11 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) und des Gehirns ($5,8 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).

Es findet sich keine strenge Parallelität zwischen Sauerstoffverbrauch und Durchblutung, was an der unterschiedlichen Ausnutzung des Blutes der einzelnen Organe deutlich erkennbar ist. Der Sauerstoffverbrauch der Niere, bezogen auf die Gewichtseinheit ist zwar sehr hoch, die Durchblutung jedoch noch wesentlich höher. Es wird klar, dass die hohe Durchströmung der Niere nicht nur Ernährungszwecken dienen kann.

Vergleicht man die Höhe des Sauerstoffverbrauches mit der Länge der Überlebenszeit der genannten Organe (maximale Funktionszeit), so kommt man zu folgenden interessanten Erkenntnissen. Als Überlebenszeit wird die Zeitspanne vom Beginn einer Ischaemie bis zum Ausfall einer geprüften Funktion bezeichnet. Sie beträgt für das Gehirn 8-10 sec - geprüft am Bewußtsein - für die Niere 8-12 sec - geprüft an der Tubulusfunktion -. Die Überlebenszeiten von Niere und Gehirn sind demnach nahezu gleich, ebenso ihr Sauerstoffverbrauch pro Zeit und pro Gewichtseinheit. Die Kürze der Zeit läßt sich mit dem hohen Energiebedarf zur Aufrechterhaltung der Funktion der Organe, der geringen Sauerstoffreserve und der glykolytischen Aktivität der Zellen der Hirnrinde erklären.

Im Herzen ist die Überlebenszeit der elektrischen Funktion wesentlich länger als die der mechanischen. Die Dauer der maximalen Funktionszeit nach Sauerstoffentzug wird durch die mechanische Funktion begrenzt und liegt bei etwa 4 min. Sie setzt der Wiederbelebenszeit des Gesamtorganismus das zeitliche Maß. Erinnert man sich an den Sauerstoffverbrauch des Herzens pro Zeit und pro Gewichtseinheit, der um ca. 50 % höher liegt als der der Niere und der des Gehirns, dann verblüfft die Länge der maximalen Funktionszeit nach Sauerstoffentzug. Die Überlebenszeit eines Organs ist jedoch nur ein Teil seiner Wiederbelebenszeit (WBZ). Als WBZ bezeichnet man die maximale Dauer einer Ischaemie, die eine völlige Wiederherstellung einer geprüften Funktion erlaubt. Sie beträgt für den Gesamtorganismus 3,5 bis 4 min und ist praktisch identisch mit der maximalen mechanischen Funktionszeit des Herzmuskels. Die Wiederbelebenszeit für das isolierte Herz wird mit mindestens 30 min angegeben, vorausgesetzt, daß das Myocard nach Beendigung der Ischaemie keine Kreislaufarbeit zu leisten hat. Die Wiederbelebenszeit für das Gehirn ist auf 8 bis 10 min begrenzt, und für die Niere wird sie mit ca. 2 st angegeben. Der Sauerstoffverbrauch der Hirnrinde und der Niere pro Gewichts- und Zeiteinheit ist praktisch identisch; die maximale Funktionszeit stimmt ebenfalls gut überein. Völlig abweichend verhält sich demgegenüber die Wiederbelebenszeit der Niere und des Gehirns. Weder das Gehirn noch die Niere verfügen über größere Energiereserven, die die unterschiedliche Toleranz gegenüber Sauerstoffentzug erklären könnten. Der Unterschied muß deshalb in der glykolytischen Aktivität dieser Organe zu suchen sein. Beim Gehirn erfolgt die gesamte Substratversorgung über die Glukose. GOTTSTEIN und Mitarb., ERBSLÖH und Mitarb. haben beim Menschen den Glukoseverbrauch des Gehirns mit 5,2 bis 5,6, bzw. mit 4 bis 7,2 mg $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ Gewebe $\cdot \text{min}^{-1}$ bestimmt. Er ist von Blutzuckerschwankungen nicht beeinflussbar, sondern wird vielmehr von der Größe des oxydativen Hirnstoffwechsels gesteuert. Das Gehirn ist wie kein anderes Organ auf die kontinuierliche Sauerstoff- und Glukosezufuhr angewiesen. Der Zusammenbruch des geringen Phosphokreatin-Vorrats fällt zeitlich mit dem Funktionsverlust, also dem Bewußtseinsschwund zusammen. Die Niere hat keinen Vorrat an Phosphokreatin (PKr) der ihr als Puffer gegenüber Sauerstoffmangel einen gewissen funktionellen Spielraum ließe. Aus diesem Grunde kann die lange Wiederbelebenszeit der Niere nur durch einen sehr geringen Stoffwechselbedarf zur Erhaltung der Struktur während der Ischaemie erklärt werden. Dafür spricht auch die geringe

arterio-venöse- O_2 -Differenz.

Die maximale Funktionszeit und der Sauerstoffverbrauch gleichen sich in Hirnrinde und Niere, demgegenüber liegt der Sauerstoffverbrauch des Herzmuskels 50 % höher, die maximale Funktionszeit ist aber 20mal länger. Bestimmt auf der einen Seite der Sauerstoffverbrauch die Überlebenszeit, dann muß das Herz über größere Energiereserven verfügen, denn im Gegensatz zum Skelettmuskel kann der Herzmuskel nur eine kleine Sauerstoffschuld eingehen (GOLLWITZER-MEIER). Einen erhöhten Sauerstoffbedarf kann das Myocard beispielsweise über eine Mehrdurchblutung ausgleichen. Die Coronardurchblutung kann bei Belastung um 70 bis 300 % und mehr ansteigen. Die Höhe dieser sog. Coronarreserve wird mit 400 % angegeben (BRETSCHNEIDER). Das Herz reagiert auf einen akuten Sauerstoffentzug mit einem Anstieg des Blutdrucks der Auswurfamplitude bei wechselnder Frequenz. Die Veränderungen der Metabolitkonzentrationen sind mit der Belastung korreliert, sie stellen sich aber nicht so rasch ein wie im Gehirn (ISSELHARD und Mitarb.). Es kommt auch im Herzmuskel zu einem rapiden Abfall des PKr während der Ischaemie. Durch die Ausschöpfung des PKr-Pools werden die ATP-Konzentrationen zunächst normal gehalten. Entscheidend für die Wiederbelebung ist jedoch der ATP-Pool. Da das Herz über wesentlich mehr PKr verfügt als das Gehirn, kann dadurch teilweise die länger tolerierte Ischaemie des Herzmuskels gegenüber dem Gehirn erklärt werden.

b) Aktive Transportmechanismen der Niere.

Die Niere verbraucht, bezogen auf ihre Gewichtseinheit, viel Sauerstoff für die Aufrechterhaltung ihrer Funktion, und aus diesem Grunde produziert sie reichlich ATP, welches als Energieträger für die endergonischen Ausscheidungsprozesse benötigt wird. Im Vergleich zu anderen Organen hat die Niere die absolut höchste Umsatzgeschwindigkeit energiereicher Phosphorverbindungen.

Im proximalen Tubulus vollziehen sich vorwiegend die Reabsorptionen. Die erforderliche Energie stammt von den energietragenden Verbindungen des Stoffwechsels, also vorwiegend vom ATP.

Die Rückresorption der Glukose ist ein energieverbrauchender Prozess, der gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgt, also osmotische Arbeit erfordert. Er läuft quantitativ nur im proximalen Tubulus ab. Weiterhin vollzieht sich hier die vollständige Rückresorption von Eiweiß und Aminosäuren. Die Natriumreabsorption stellt einen aktiven Transport gegen ein elektrisches Potential dar, dabei wird fast das gesamte Natrium (98 bis 99 %) aus dem Primärharn zurückgenommen. Der aktive Transport bezieht sich nur auf das Na^+ -Ion, während die entsprechenden Anionen, in erster Linie Chlorid, passiv folgen. Fast 75 % des Natriums werden im proximalen Tubulus reabsorbiert. Der Rest des Natriums wird aus den Sammelröhren rückresorbiert, zum Teil gegen sezernierte H^+ -Ionen (ULLRICH). Die heute vorliegenden Arbeitshypothesen legen zugrunde, daß 95 % des Kaliums im proximalen Tubulusabschnitt reabsorbiert werden und im distalen Tubulus das K^+ -Ion gegen Austausch des Na^+ -Ions sezerniert wird, entsprechend der Menge, wie es im Urin erscheint.

Im Vergleich zu anderen Organen verfügt die Niere über den schnellsten K^+ -Ionen-Austausch. Wahrscheinlich liegen in der Niere ähnlich enge Beziehungen zwischen dem Na^+ - und K^+ -Ionen-Transport und den Umsetzungen der energiereichen Phosphate vor, wie in anderen Zellen (FLECKENSTEIN). Diese Hypothesen stützen sich auf Beobachtungen über die Beeinflussung der Kationen-Bewegungen in Nierenschnitten durch Sauerstoffmangel und Glykosidgifte. Neben den aktiven Transportmechanismen verlaufen die Sekretionstätigkeiten der Nierentubuli endergonisch. Energieverbrauchend verläuft die Sekretion von körperfremden Substanzen und vorwiegend von K^+ - und H^+ -Ionen.

Es besteht noch keine vollständige Klarheit darüber, ob die Wasserrückresorption zu einem gewissen Teil endergonisch verläuft, oder ob das Wasser ausschließlich den aktiv transportierten Substanzen passiv folgt. Entscheidend für die Reabsorption des Wassers in den Sammelröhren ist die Tatsache, daß ein aktiver Natriumtransport die Umgebung der Sammelröhren hyperten macht, und eine passive Rückdiffusion des Wassers ermöglicht, deren Ausmaß von der Permeabilität der Wand abhängig ist, die wiederum vom Antidiuretin gesteuert wird. Das Gegenstromprinzip der Henleschen Schleife wirkt dabei potenzierend, da der osmotische Druck im Gewebe und Blut in Richtung der Papillenspitze laufend zunimmt und dadurch eine Diffusion des Wassers aus den Sammelröhren begünstigt.

Per Bilanz besteht der Energieverbrauch der Niere in der Aufrechterhaltung des Konzentrationsunterschiedes zwischen Primärharn und Endharn.

Die folgenden eigenen Untersuchungen veranschaulichen die Verschiebungen der energietragenden Verbindungen in der ischaemischen Niere unter Transplantationsbedingungen.

III. Methodik

Im Kapitel Methodik werden die gemeinsamen Fakten der einzelnen Versuchskollektive beschrieben; die speziellen methodischen Unterschiede werden nicht berührt. Wegen den verschiedenen Versuchsgruppen müssen, der Übersicht halber, die erforderlichen experimentellen Abweichungen in den betreffenden Abschnitten abgehandelt werden.

1. Experimentelles Vorgehen zur Bestimmung der Substrate in der Kaninchenniere

Als Versuchstiere dienten Kaninchen mit einem Durchschnittsgewicht von 2,25 kg. Sie unterlagen den gleichen äußeren Bedingungen. Die Operationen wurden zu bestimmten Zeiten vorgenommen, um tagesrhythmische Stoffwechselschwankungen möglichst auszuschalten. Die Versuchstiere wurden in flacher Thiopental-Narkose (durchschnittlich 30 mg/kg Körpergewicht) laparotomiert. Die Gewebeproben wurden nach Eröffnung des Abdomens durch in-situ-Quetscheinfrierung zwischen den Backen einer in flüssigem Stickstoff (-190°C) vorgekühlten Zange aus den Nieren entnommen und sofort in flüssigen Stickstoff eingebracht (Gefrierstop nach WOLLENBERGER).

2. Experimentelles Vorgehen zur Bestimmung der Substrate in der Hunde- und Menschenniere

Als Versuchstiere dienten Bastardhunde beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 16 und 28 kg. Die Ernährung der Tiere wurde standardisiert und erfolgte mit Hundefertigfutter. Sie lebten unter den gleichen äußeren Bedingungen.

Nach einer Basisnarkose mit etwa 50 mg/kg Körpergewicht Thiopental [®] wurden die Tiere per oral intubiert und nach Relaxation mit 50 mg Succinylcholin mit dem Engström-Respirator beatmet. Das Atemvolumen betrug durchschnittlich 7 bis 8 l/min. Das Beatmungsgemisch setzte sich aus Lachgas-Sauerstoff im Verhältnis 1:1 zusammen.

Die Atemfrequenz wurde mit 20/min eingestellt. Zur Aufrechterhaltung des Flüssigkeitsvolumens erfolgte eine i.v. Infusion während der Operation, die aus einer 5%igen Calorose-Ringerlösung bestand.

Die Gewebsentnahme erfolgte nach der Laparotomie durch in-situ-Quetscheinfrierung

zwischen den Backen einer in flüssigem Stickstoff vorgekühlten Zange aus der Nierenrinde. Die Proben wurden sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren.

Die Gewinnung der Gewebeproben zur Bestimmung der biochemischen Substrate in der Rinde menschlicher Nieren erfolgte ebenfalls durch in situ-Quetschgefrierung. Es handelte sich um Nieren, die wegen eines Tumors entfernt werden mußten. Die Gewebeproben wurden dem gesunden Teil des Organs entnommen. Die Funktion der menschlichen Niere war durch vorherige Untersuchung als normal befunden worden.

3. Methodik zur Bestimmung der Substrate.

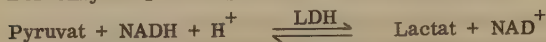
Die optischen Fermentteste zur Bestimmung des Gehaltes an ATP, ADP und AMP wurden im Eppendorf-Spektralphotometer unter Beachtung der Arbeitsanleitungen von HOHORST u. Mitarb., THORN und Mitarb., BERGMEYER sowie der Richtlinien der Fa. C.F. BOEHRINGER & Söhne, Mannheim durchgeführt. Die Phosphatbestimmung erfolgte nach der Methode von THORN u. Mitarb., die Bestimmung des Pyruvat- und Lactatgehaltes nach HOHORST, KREUTZ und BÜCHER.

Die in flüssigem Stickstoff eingefrorenen Gewebeproben wurden zerkleinert und anschließend mit Hilfe eines Metallstempels und Hammers in einem tief gekühlten Mörser zu festen Tabletten von 1,9 cm Durchmesser gepreßt, die sich dann leicht teilen und wiegen ließen (HOFFMANN u. Mitarb.). Die zu Tabletten geformten Gewebeproben wurden gewogen und in ein Homogenisatorglas mit eiskalter 6 %iger Perchlorsäure gegeben. Auf 100 mg Gewebe kam 1 ml Perchlorsäure. Anschließend wurde der Gewebsbrei so schnell wie möglich homogenisiert und 10 min lang in der Kühlzentrifuge bei 4500 U/min zentrifugiert, danach im Magnetrührer bis zum Umschlag der als Indikator zugesetzten 0,1 %igen Methylorangefärbung mit 3n KOH neutralisiert. Der Niederschlag von $KC_{10}H_8O_4$ wurde durch nochmaliges hochtouriges Zentrifugieren nach 30 min abgetrennt.

Danach wurde die Analyse in folgender Reihenfolge vorgenommen:

1) Pyruvat

Der enzymatische Test beruht auf der Reaktion



Lösungen:

TRA- Puffer (0,4 M, pH 7,6) Triäthanolamin-Puffer

NADH (2,7 mMol/l) Nicotinamid-adenin-dinucleotid reduziert

LDH (5 mg/ml) Lactat-Dehydrogenase

Testzusammensetzung:

2,00 ml Extrakt

0,20 ml TRA-Puffer

Küvettenvolumen 2,32 ml

0,10 ml NADH

Wellenlänge 366 nm (Eppendorf)

0,02 ml LDH

Schichtdicke $d = 2 \text{ cm}$ (Halbmikroküvetten)

In die Küvette wurden nacheinander Extrakt, TRA-Puffer und die NADH-Lösung pipettiert. Dann wurde die Anfangsextinktion E_1 2 mal im Abstand von 2 min abgelesen. Nach Hinzufügen von 0,02 ml LDH wurde die Extinktionsabnahme nach 5 min abgelesen.

$$\Delta E = E_1 - E_2$$

Berechnung:

$$\frac{\Delta E \times V_A \times V_E \times 10^3}{\epsilon \times d \times V_P \times FG} = \text{nMol Pyruvat / g Frischgewebe}$$

V_A = Volumen des Testansatzes in der Küvette (2,32 ml)

V_E = Volumen des Gesamtextraktes

V_P = Einsatzvolumen (2,0 ml)

$\epsilon_{366} = 3,3 \text{ cm}^2 / \mu\text{Mol}$

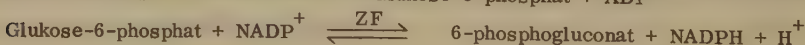
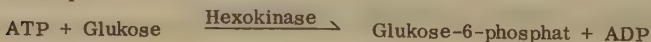
d = Schichtdicke (2 cm)

FG = Frischgewicht in g

2) ATP

ATP-Bestimmung mit Hexokinase und Zwischenferment (G-6-PDH)

Prinzip:



Lösungen:

TRA-Puffer (pH 7,6, 0,4 M), MgCl_2 (0,1 M), NADP-Lsg. (12 mMol/l),

G-6-PDH = ZF (5 mg/ml 1:10 verdünnt), Glukose ($\sim$ 0,5 M)

HK (2 mg/ml 1:10 verdünnt)

Testzusammensetzung:

1,30 ml aqua redest.

0,20 ml TRA-Puffer

0,50 ml Extrakt

0,10 ml MgCl_2

0,10 ml NADP Nikotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat

0,02 ml ZF (Zwischenferment) Glukose-6-phosphat-dehydrogenase

0,02 ml Glukose

0,02 ml HK Hexokinase

Küvettenvolumen 2,26 ml, Wellenlänge 366 nm, $d = 1$ cm, $t = 20$ bis 25°C

Nach Hinzufügen des Zwischenfermentes wird die Extinktion über 5 min verfolgt und der Endwert E_1 abgelesen. Nach Zusatz der Glukose und Hexokinase wird die Bewegung der Extinktion bis zur 25. Minute verfolgt und dadurch der Endwert E_2 ermittelt.

$$\Delta E = E_2 - E_1$$

Berechnung:

$$\frac{\Delta E_{\text{ATP}} \times V_A \times V_E \times 10^3}{\epsilon \times d \times V_P \times \text{FG}} = \text{nMol ATP / g Frischgewebe}$$

V_A = Volumen des Testansatzes in der Küvette (2,26 ml)

V_E = Volumen des Gesamtextraktes

V_P = Einsatzvolumen (0,5 ml)

$\epsilon_{366} = 3,3 \text{ cm}^2 / \mu \text{Mol}$

d = Schichtdicke (1 cm)

FG = Frischgewicht in g

3) Phosphatbestimmung

Als "anorganisches Phosphat" wird der Phosphor bezeichnet, der bei pH 0 in Anwesenheit von Ammoniummolybdat bei 0°C in 3 bis 5 min einen Phosphomolybdatkomplex bildet. "Labiles Phosphat" werden diejenigen organischen Phosphatverbindungen genannt, die bei 30°C im Thermostat bei pH 0 in 30 min

hydrolysiert werden und einen Phosphomolybdatkomplex bilden. Nach LOHMANN, THORN und Mitarb. entspricht diese labile Phosphat-Fraktion in ihren Hydrolyse-eigenschaften dem Phosphokreatin. Methodisch wird bei dieser Bestimmung so vorgegangen, daß in aliquoten Volumina derselben Probe nebeneinander das anorg. Phosphat bei 0° C und das Gesamtphosphat nach 30 min Hydrolyse bei 30° C bestimmt wird. Die Differenz von Gesamtphosphat und anorg. Phosphat ergibt das dem Phosphokreatin entsprechende labile Phosphat.

Lösungen:

50 g Ammoniummolybdat + 400 ml 10n H_2SO_4 ad 1000 ml, Isobutylalkohol-Benzol-Gemisch 1:1, 20 ml H_2SO_4 konz. in 980 ml absol. Alkohol, 10 g $SnCl_2$ in 25 ml 37 %iger Salzsäure vor Gebrauch verdünnt 1:200 mit 1n H_2SO_4 .

Anorganisches Phosphat:

Der Extrakt von 0,2 ml wurde mit aqua dest. auf 3,0 ml aufgefüllt und im Eisbad mit 1,0 ml Molybdatreagens versetzt, das 3 bis 5 min einwirkte. Danach wurde 5,0 ml Isobutylalkohol-Benzol hinzugefügt, um die Hydrolyse zu stoppen. In Schliffgläsern wurde die Mischung 20 bis 30 Sek. kräftig geschüttelt. Nach Trennung der Phasen wurden vom Überstand je 3,5 ml abpipettiert und in leere Schliffgläser gegeben. Diese 3,5 ml wurden zur quantitativen Erfassung mit 4,15 ml absol. Alkohol + konz. H_2SO_4 + 0,35 ml $SnCl_2$ 1:200 versetzt, kräftig geschüttelt und im Eisschrank aufbewahrt. Messung der Vollwerte gegen Reagentienleerwert nach 5 Min Wartezeit.

Wellenlänge 578 nm (Eppendorf). d = 1 cm.

Labiles Phosphat:

Nach der Molybdatzugabe wurde die Probe sofort für 30 min in ein Wasserbad von 30° C gebracht, das in einem Thermostaten untergebracht wurde. Nach Ablauf von 30 min wurde die Probe ins Eisbad gebracht. Die Aufarbeitung erfolgte dann in gleicher Weise und Reihenfolge wie beim anorganischen Phosphat.

Berechnung:

$$\frac{\Delta E \times F \times V_E \times 10^3}{V_P \times FG} = \mu \text{ Mol Phosphat / g Frischgewebe}$$

F = aus der Eichkurve ermittelter Faktor

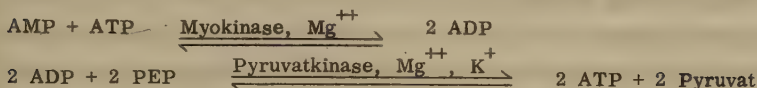
V_E = Gesamtextrakt

V_P = Einsatzvolumen

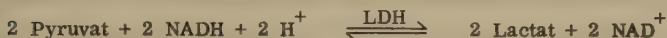
FG = Frischgewicht in g

4) ADP/AMP

Der enzymatische Test beruht auf den Reaktionen:



Indikatorreaktion:



Lösungen:

TRA- Puffer modifiziert (pH 7,6), NADH (27 mMol/l) PEP (40 mMol/l),
LDH (5 mg/ml 1:5 verdünnt), PK (2 mg/ml 1:2,5 verdünnt), MK (5 mg/ml).

Testzusammensetzung:

- 0,500 ml TRA-Puffer 5
- 0,855 ml aqua bidest.
- 0,100 ml Extrakt
- 0,010 ml NADH
- 0,020 ml PEP Phosphoenol-pyruvat
- 0,005 ml LDH
- 0,005 ml PK Pyruvat-Kinase
- 0,005 ml MK Myokinase

Küvettenvolumen 1,50 ml, Wellenlänge 366 nm (Eppendorf), d = 2 cm.

In die Küvette wurden nacheinander der Puffer, aqua redest., Extrakt, NADH und PEP pipettiert. Dann wurde die Anfangsextinktion E_0 abgelesen und LDH hinzugefügt. Nach 5 min wurde die Extinktionsänderung E_1 abgelesen und danach PK zugegeben. Nach wiederum 5 min wurde E_2 vermerkt und MK einpipettiert. Nach 10 min wurde E_3 abgelesen.

$$\Delta E_{\text{ADP}} = E_1 - E_2$$

$$\Delta E_{\text{AMP}} = E_2 - E_3$$

Berechnung:

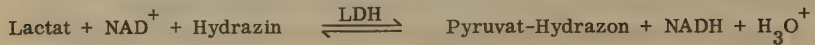
$$\frac{\Delta E_{\text{ADP}} \times V_A \times V_E \times 10^3}{\epsilon \times d \times V_P \times \text{FG}} = \text{nMol ADP / g Frischgewebe}$$

$$\frac{\Delta E_{\text{AMP}} \times V_A \times V_E \times 10^3}{2 \times \epsilon \times d \times V_P \times \text{FG}} = \text{nMol AMP / g Frischgewebe}$$

- V_A = Volumen des Testansatzes in der Küvette (1,5 ml)
 V_E = Volumen des Gesamtextraktes
 V_P = Einsatzvolumen (0,1 ml)
 $\epsilon_{366} = 3,3 \text{ cm}^2 / \mu\text{Mol}$
 d = Schichtdicke (2 cm)
 FG = Frischgewicht in g

5) Lactat

Der enzymatische Test beruht auf der Reaktion:



Lösungen:

Hydrazin-Glyzin-Puffer (0,4 M Hydrazin, 1,0 M Glyzin, pH 9,5),

NAD (27 mMol/l), LDH (5 mg/ml).

Testzusammensetzung:

2,00 ml Hydrazin-Glyzin-Puffer

0,20 ml Extrakt

0,20 ml NAD

0,02 ml LDH

Küvettenvolumen 2,42 ml, Wellenlänge 366 nm (Eppendorf), $d = 2 \text{ cm}$ (Halbmikro-
küvetten).

Die Proben wurden nach 30 min Wartezeit gegen einen Leerwert gemessen.

Berechnung:

$$\frac{\Delta E \times V_A \times V_E \times 10^3}{\epsilon \times d \times V_P \times FG} = \text{nMol Lactat / g Frischgewebe}$$

V_A = Küvettenvolumen

V_E = Gesamtextrakt

V_P = Einsatzvolumen

$\epsilon_{366} = 3,3 \text{ cm}^2 / \mu\text{Mol}$

d = Schichtdicke

FG = Frischgewicht in g

4. Kritik der Methodik

Neben der Belastung des Organismus durch Narkose und Operation üben auch die Manipulationen beim Hervorluxieren des Organs und die Gewebstraumatisation beim Fassen der Nierenrinde mit der Gefrierzange einen ungünstigen Einfluß auf den Stoffwechsel aus. FLECKENSTEIN, ISSELHARD, MERGUET und WOLLENBERGER haben auf die außerordentliche Labilität energiereicher Verbindungen wie Pkr und ATP eindringlich hingewiesen; Verzögerung und Zellschädigung bei der Gewebsentnahme verursachen unabhängig von der Bestimmungsmethode eine dem wirklichen Verhältnis nicht mehr entsprechende Verschiebung zu den energieärmeren Stufen ADP und AMP.

GERLACH u. Mitarb. gaben dem methodischen Verfahren der Ganztiereinfrierung und der in-situ-Quetscheinfrierung den Vorzug, weil dadurch die Veränderungen der Metabolite durch Stoffwechselalterationen vermieden werden konnten. Eine nervöse Beeinflussung der Metabolitveränderungen konnten sie ausschließen, da die elektrische Reizung des Nierenhilus keine nachweisbaren Verteilungsveränderungen der energiereichen Phosphorverbindungen hervorrief. Zur Bestimmung einer möglichst realen Konzentration der Adenin-Nucleotide übernahmen wir die in-situ-Quetscheinfrierung der Niere. Zur Vermeidung von mechanischen Alterationen wurden die Nieren vorsichtig praepariert, möglichst ohne Berührung des Nierenstiels. Beim Hund und beim Menschen wurde zur Entnahme der Gewebeproben nur ein Pol der Niere dargestellt.

Die Sicherheit der Methode der in-situ-Quetscheinfrierung verringert sich zudem mit der Größe des Organs. Bei der Zunahme der Parenchymdicke der Hunde- und Menschenniere vollzieht sich der in-situ-Gefrierstopp langsamer, so daß Abbauvorgänge der Metabolite möglich sind. Der ATP-Gehalt wird im Verhältnis zum AMP abnehmen. Diese Abbauvorgänge konnten wir trotz sorgfältiger Präparation und rascher Einfrierung nicht vermeiden. Sie werden auch bei der Größe des Parenchymorgans kaum zu verhindern sein.

Bei der Entnahme der Gewebsstücke aus der Nierenrinde wird nicht nur Parenchym, sondern auch Blut mit erfaßt und eingefroren. Die Erythrocyten haben infolge ihres geringen Stoffwechsels auch nach längeren Ischaemiezeiten einen relativ hohen ATP-

Gehalt. Diese aus den roten Blutkörperchen stammende ATP-Konzentration könnte die Metabolitverschiebungen in der Nierenrinde überdecken. GERLACH hat den Erythrocytengehalt/g Niere mit 80 mg/g angegeben. Wir glauben, daß dieser prozentual geringe Bestandteil die Meßwerte der Substrate nicht entscheidend beeinträchtigt. Nach der Nierenperfusion, wie wir sie bei der Hundeniere durchführten, fanden wir keine wesentlichen Konzentrationsunterschiede der Adenin-Nucleotide gegenüber den nichtperfundierten Nieren.

5. Operatives Vorgehen zur Nierentransplantation.

Es wurden immer gleichzeitig zwei Hunde operiert, um homoilog zu transplantieren. Nach Rasur des betreffenden Hautareals erfolgte unter sterilen Bedingungen die rechtsseitige Laparatomie durch einen Rippenbogenrandschnitt, der entsprechend der vorgesehenen Lokalisation des Transplantates zur Leiste verlängert wurde. Die Niere wurde transperitoneal freigelegt und Nierenarterie, Nierenvene und Harnleiter praepariert. Die Stielgefäße wurden anschließend unterbunden, der Harnleiter abgeklemmt und durchtrennt. Bei der isotopen Transplantation erfolgte nur eine Abklemmung der Nierenstielgefäße, da die Gefäßstümpfe zur Anastomose verwendet werden mußten.

Die zur Transplantation entfernte Niere wurde zum Teil mit einer Lösung von 500 ml perfundiert, sog. osmolare Perfusion, die sich wie folgt zusammensetzte: 2 % Glucose, 2 % Mannit, 0,4 % Novocain und 800 I. E. Heparin. Die Perfusion wurde als Schwerkraftperfusion über die A. renalis mit einem Höhenunterschied von 1 m bei einer Temperatur der Perfusionsflüssigkeit von 24° C durchgeführt. Durch die Schwerkraftperfusion sollte eine Strukturschädigung vermieden werden. Mit Hilfe elektronenmikroskopischer Untersuchungen konnten wir eine Schädigung ausschließen. Wie vergleichende Untersuchungen zeigten, wurde das Energieniveau durch diese Art der Nierenperfusion nicht beeinträchtigt. Außerdem wurde geprüft, ob durch die Perfusion eine Enzym- oder Metabolitausspülung aus dem Transplantat erfolgte. Die Untersuchungen der perfundierten Flüssigkeit ergab nach der Nierendurchspülung nur Spuren von GOT, GPT, LDH und ATP. Sie stammen wahrscheinlich aus dem Blut, welches durch die Perfusion aus den Nieren gespült wurde. Entsprechende Blutspuren wies das Perfusionsmedium schon makroskopisch auf.

Die Perfusionsflüssigkeit setzte sich nach folgenden Überlegungen zusammen: Der Mannitzusatz wurde in der Absicht verabfolgt, der ausgeschalteten Niere ein ausreichendes Mannitdepot zu geben, um nach Wiederanschluß die osmolare Diffusion zu beschleunigen und damit die Urinproduktion anzuregen. Der Novocainzusatz sollte eine Dilatation der Nierengefäße bewirken. Der Heparinzusatz war zur Vermeidung von Thrombosierungen nach Wiederanschluß der Niere an das Gefäßsystem des Empfängers bestimmt. Die Glucoselösung diente als Vehikel. BRETSCHNEIDER benutzte eine Lösung in ähnlicher Zusammensetzung bei seiner Coronarperfusion und erreichte dadurch über lange Zeit ein hohes Energieniveau in der ischaemischen Myocardzelle. Der Befund am Herzen kann nicht ohne weiteres auf die Niere übertragen werden, da hier das energetische Niveau des Funktionstoffwechsels nicht aufrechterhalten werden kann und das Herz im Gegensatz zur Niere einen hohen Strukturstoffwechsel besitzt.

Arterielle Nahttechnik: Durch atraumatische Seidennaht mit einfach armiertem Faden (4 x O RW 1) von außen nach innen, innen nach außen wurden zwei gegenüberliegende Punkte oben und unten an den Gefäßenden markiert und geknüpft. Die Naht der Vorder- und Hinterwand erfolgte durch atraumatische fortlaufende Naht des armierten Eckfadens. Die fortlaufende Naht wurde zum Schluß mit dem entsprechenden Eckfaden geknotet.

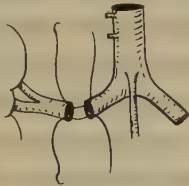
Venöse Nahttechnik: Zur Naht der venösen Anastomose verwendeten wir die sog. Vierecknaht, wie sie auch von STARZL angegeben wurde. Mit dieser Nahttechnik ließ sich eine Einengung des Venenvolumens an der Anastomosenstelle vermeiden. Vier gegenüberliegende Punkte der Venenlumina wurden durch einfach armierte atraumatische Seidennaht (4 x O RW 1) von außen nach innen, innen nach außen markiert und geknotet. Die Abdichtung der Anastomose erfolgte durch einfache atraumatische Naht von Markierungspunkt zu Markierungspunkt und Knüpfung mit dem entsprechenden Eckfaden (Abb. 1).

Technik der Ureteranastomose: Ein Silikonschlauch wurde nierenwärts durch den Spenderureter eingelegt und durch den Empfängerharnleiter blasenwärts vorgeschoben. Die Vereinigung erfolgte End-zu-End durch einzelne atraumatische Seidennähte über dem Silikonschlauch. Dadurch wurde eine Stenose an der Anastomose vermieden und eine sichere Urinableitung erreicht. Der Vorteil der Methode gegenüber der

Ureterocystoneostomie liegt darin, daß die Blase nicht eröffnet werden muß. Der auf diese Art rekonstruierte Ureter setzt sich aus $\frac{2}{3}$ Empfänger- und $\frac{1}{3}$ Spenderureter zusammen.

Nach der Transplantation wurde die Niere durch Fixationsnähte durch die Kapsula fibrosa oder durch perirenales Fettgewebe dergestalt an der Bauchwand befestigt, daß die Durchblutung des Transplantates nicht durch Abknickung des Gefäßstiels beeinträchtigt wurde. Auf eine Drainage wurde verzichtet. Die Operation wurde durch schichtweisen Verschuß der Bauchdecken beendet.

Naht der arteriellen Anastomose



Naht der venösen Anastomose

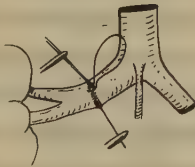
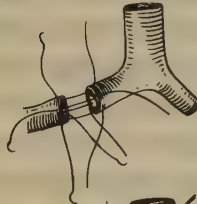


Abb. 1: Die Zeichnung veranschaulicht die von uns durchgeführte arterielle und venöse Gefäßnahttechnik.

IV. Stoffwechseluntersuchungen der Niere.

a) Stationäre Konzentration von energiereichen P-Verbindungen in der Nierenrinde

Wegen des hohen Sauerstoffverbrauchs der Niere und der hohen Umsatzgeschwindigkeit säurelöslicher P-Verbindungen interessiert vor allem die wirkliche Konzentration dieser Metabolite in der Nierenrinde. Man vertrat eine Zeitlang die Auffassung, daß die Niere wenig ATP, dafür aber um so mehr ADP, AMP und anorganisches Phosphat enthielte (IMONOTO u. Mitarb. 1958; SCHWARZ u. Mitarb. 1953; ULLRICH u. Mitarb. 1959). Vereinzelte Autoren fanden dagegen weniger Orthophosphat und mehr ATP (GERLACH u. Mitarb. 1959; MASCITELLI-CORIAN-DOLI u. Mitarb. 1959; THORN u. Mitarb. 1957). GERLACH u. Mitarb. (1960) veröffentlichten weitere Untersuchungen zur realen Metabolitenkonzentration in der Niere, in der Absicht die widersprüchlichen Befunde aufzuklären. Sie versuchten mit verschiedenen experimentellen Methoden, durch insitu-Ganzeinfrierungen und durch insitu-Quetscheinfrierungen (Gefrierstop nach WOLLENBERGER), die reale Metabolitenkonzentration in der Niere bei möglichst ungestörtem Stoffwechselablauf zu erhalten. Als Versuchstiere wurden Albinoratten verwandt, die Extrakte papierchromatographisch aufgearbeitet und die Nucleotide in einem zweidimensionalen Verfahren getrennt. Die Autoren registrierten hohe ATP-Werte neben geringen Konzentrationen von ADP, AMP und Pa. Auf Grund ihrer Versuchsergebnisse stellten sie fest, daß die niedrigeren Konzentrationsdaten der energiereichen Phosphorverbindungen ursächlich auf die Entnahmetechnik und auf mechanische Manipulationen zurückzuführen sind.

Tabelle 1 enthält die Mittelwerte der stationären Konzentrationen säurelöslicher P-Fractionen verschiedener Arbeitsgruppen und verschiedener Tierspecies. Die Werte von ATP erscheinen bei den Nagern kaum unterschiedlich. Die von uns gefundenen Mittelwerte liegen dabei am niedrigsten. Man kann jedoch annehmen, daß die realen Konzentrationen von ATP in der Niere um $2 \mu\text{mol/kg}$ liegen. Bei den verschiedenen Arbeitsgruppen findet sich kein wesentlicher Unterschied, obgleich das methodische Vorgehen zur Bestimmung der Substrate nicht einheitlich war. Abweichende Ergebnisse bemerkt man beim AMP. Die von uns gemessenen Kon-

Tabelle 1.

Metabolitkonzentrationen säurelöslicher Phosphorverbindungen in der Nierenrinde. (Mittelwerte)

Angaben in μ Mol/l

	Spezies	n	ATP	ADP	AMP	Pa	ATP/ADP
GERLACH u. Mitarb.	Albinoratten	10	2,11	0,68	0,43	3,14	3,1
THORN u. Mitarb.	Kaninchen		2,2	0,8	0,2 bis 0,4	2,4	
VOSS u. Mitarb.	Kaninchen	20	1,96	0,77	0,8	3,2	2,6
"	Hunde	6	1,03	0,75	0,9	3,0	1,4
"	Menschen	6	1,0	0,42	0,86	2,25	2,2

zentrationen sind fast doppelt so hoch wie die von THORN und GERLACH. Es scheinen sich in unseren Versuchen durch mechanische Alterationen bei der Entnahme Abbauvorgänge zur energiearmen Seite bemerkbar zu machen. In diesem Sinne läßt sich der erniedrigte ATP/ADP-Quotient erklären. Die Gesamtkonzentration der Adenin-Nucleotide gleicht sich in den drei Versuchsgruppen bei den Nagern an. Die vorliegenden geringen Abweichungen der Konzentration können durch die verschiedenen Betäubungsarten hervorgerufen worden sein, zumal man bei der von uns durchgeführten i.v.-Barbituratnarkose mit kurzen apnoeischen Phasen rechnen muß. Trotzdem möchten wir glauben, daß die Zusammenstellung der durch die Gefrierstopmethode ermittelten Metabolitkonzentrationen bei Nagern gut übereinstimmen und die Abweichungen in vertretbaren Grenzen liegen. Die Konzentrationen der säurelöslichen Phosphorverbindungen ändern sich in den Hunde- und Menschennieren. Der ATP-Gehalt sinkt fast um die Hälfte ab, während die AMP-Konzentrationen ansteigen. Entsprechend verhält sich der ATP/ADP-Quotient. Dagegen erscheinen die Orthophosphat-Konzentrationen keinen wesentlichen Schwankungen unterworfen zu sein; sie zeigen zumindest keine auffallend ansteigende Tendenz. Die Gesamtkonzentrationen der Adenin-Nucleotide konnten wir in der Hunde- und Menschenniere niedriger registrieren als in der Niere der Nager. Für diese Unterschiede lassen sich mehrere Gründe ursächlich anführen. Die Durchführung der Narkose bei Hund und Mensch unterscheidet sich erheblich von der oberflächlichen Narkose der Nager. Es ist möglich, daß die unterschiedlichen Narkosearten die Konzentrationen der säurelöslichen Phosphorverbindungen verändern. Die Sicherheit der Methode der in-situ-Quetscheinfrierungen verringert sich mit der Größe des Organs. Die reale ATP-Konzentration in der Hunde- und Menschennierenrinde dürfte über den von uns ermittelten Werten liegen. Sie erscheint jedoch gegenüber der der Nager vermindert zu sein. Dafür spricht die Abnahme der Gesamt-Adenin-Nucleotidkonzentration. Wir sind deshalb der Ansicht, daß sich die Konzentration der energiereichen P-Verbindungen in der Niere bei größeren Säugetieren und beim Menschen verringert. Es wäre eine rein spekulative Hypothese, den höheren ATP-Wert und den Gesamtgehalt der Adenin-Nucleotide in der Nierenrinde der Nager mit einem erhöhten Funktionsstoffwechsel der kleineren Tiere zu verbinden.

b) Das Verhalten der Adenin-Nucleotide nach Sauerstoffentzug
in der Nierenrinde

Der Stoffwechsel der Nucleotide wird in der Niere nach Sauerstoffentzug sehr schnell und in starkem Maße beeinträchtigt. Neben den Adenin-Nucleotiden verfügt die Niere über Guanin- und Uridin-Nucleotide, die aber bei weitem nicht die Höhe der Konzentration der Adenin-Nucleotide erreichen ($0,38 \mu\text{mol/g}$, bzw. $0,64 \mu\text{mol/g}$; nach GERLACH u. Mitarb.). Adenin- und Guanin-Nucleotide liegen zu etwa 70 % in Form ihrer energiereichen Triphosphate vor (ATP $2,05 \mu\text{mol/g}$, GTP $0,27 \mu\text{mol/g}$). Der Gehalt an UTP bezüglich des Gesamtgehaltes der Uridin-Nucleotide beträgt dagegen nur ca. 30 % (UTP $0,18 \mu\text{mol/g}$). Größenordnungsmäßig liegt die Konzentration von UTP und GTP um etwa eine Zehnerpotenz unter der des ATP. Der Abbau von ATP erfolgt über das ADP - AMP - IMP - Inosin - Hypoxanthin zu Xanthin, der Abbau von GTP - GDP - GMP zu Xanthin, wobei die Substrate zwischen GMP und Xanthin noch nicht bekannt sind (GERLACH und DEUTICKE). UTP wird über UDP - UMP - Uridin zu Uracil abgebaut. Die De-phosphorylierungsprozesse in der Niere ähneln denen in der Leber und im Skelettmuskel. Die initiale Spaltung von ATP über das ADP zu AMP erscheint dabei als normale Folge energieverbrauchender Reaktionen, während sich der weitere Abbau katabolisch vollzieht. Die Niere hat daneben nur einen sehr geringen Vorrat an Kohlenhydraten. PKr wird nur in Spuren gefunden, dabei wird ein Großteil seiner Konzentration als Bestandteil der Muscularis der intrarenalen Gefäße zuzuordnen sein. Die Veränderungen der Konzentration der Adenin-Nucleotide beginnen schon in den ersten Sekunden nach der Ischaemie. Diese ersten Veränderungen haben GERLACH u. Mitarb. sehr eingehend untersucht. Die ATP-Konzentration ist bereits 5 sec nach der Unterbrechung der Blutzufuhr um 20 %, nach 15 sec um mehr als 40 % abgesunken; bei Fortdauer der Ischaemie erfolgt dann der Substratverlust wesentlich langsamer. Nach 5 min finden sich noch etwa 15 % ATP in der ischaemischen Niere. Der ATP-Verlust zwischen 15 und 300 sec ist quantitativ dem Verlust in den ersten 15 sec vergleichbar. GERLACH unterscheidet einen 4-Phasen-Verlauf der Konzentrationsveränderungen der Adenin-Nucleotide nach plötzlichem Sauerstoffentzug. In der ersten Phase (2 bis 30 sec) kommt es zum Erliegen der oxydativen Resynthese von ATP, daraus resultiert ein starker Abfall. In den ersten Sekunden erfolgt eine Zunahme von ADP, die

aber nur kurz anhält, um dann auch abzufallen. Das AMP steigt dagegen kontinuierlich an. Somit wird das ATP stufenweise zu AMP abgebaut. In der 2. Phase (30 sec bis 2 min) erfolgt der Abbau von ATP langsamer, als Folge einer Intensivierung anaerober glykolytischer Umsetzungen, die über eine Substratphosphorylierung ATP bilden. In der 3. Phase (2 bis 5 min) bleiben die Adeninfractionen konstant. Die 4. Phase (5 min und längerdauernde Ischaemie) ist gekennzeichnet durch das Fortschreiten des Energiedefizits. Die glykolytische Resynthese wird infolge Substratmangels unzureichend. Die Gesamtkonzentration der Adenin-Nucleotide bleibt bis zu 5 min nach totaler Ischaemie konstant.

Auf diesen Untersuchungsergebnissen haben wir unser methodisches Vorgehen aufgebaut. Man kann annehmen, daß der plötzliche initiale Triphosphatverlust nach 5 Minuten abgeschlossen ist, um in einen langsamen kontinuierlichen Abfall überzugehen. Dieser fortschreitende Substratverlust ist der Ausdruck des zunehmenden Energiedefizits der anaeroben Glykolyse. Für die Nierentransplantation ist das Verhalten der Adenin-Nucleotide über die nächsten Stunden von Bedeutung.

Es wurden 4 Versuchsserien durchgeführt:

1. Kontrollserie mit 10 Tieren
2. Versuchsreihe mit 10 Tieren (5 Minuten Ischaemie der Niere)
3. Versuchsreihe mit 10 Tieren (1 Stunde Ischaemie der Niere)
4. Versuchsreihe mit 10 Tieren (2 Stunden Ischaemie der Niere).

Bei der Kontrollserie wurden beide Nieren nach Eröffnung des Abdomens durch insitu-Quetscheinfrierung zwischen den Backen einer in flüssigem Stickstoff vorgekühlten Zange entnommen und sofort in flüssigen Stickstoff gebracht.

In der 2. Versuchsserie wurde nur eine Niere nach der Laparotomie entnommen und in einer feuchten Kammer bei einer konstanten Temperatur (24 Grad C) gelagert. Die Gewebsentnahme erfolgte 5 Min. nach der Exstirpation. Die entnommenen Gewebsstücke wurden sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren. Das methodische Vorgehen bei der 3. und 4. Serie war dem der 1. Versuchsreihe analog. Die Nieren wurden nur 1 bzw. 2 Stunden in einer feuchten Kammer bei konstanter Temperatur aufbewahrt, ehe sie in flüssigen Stickstoff eingefroren wurden.

Die Bestimmung der Substrate erfolgte enzymatisch in der gleichen Weise wie

vordem beschrieben. Die statistische Bewertung wurde mit Hilfe des parameterfreien WILCOXON-Testes durchgeführt. Die Meßwerte der Substrate sind in den folgenden Tabellen 2 - 5 aufgetragen. Die Tabellen enthalten außerdem das arithmetische Mittel ($\bar{x}$) und die mittleren Fehler ($s_{\bar{x}}$).

Aus den beiden entnommenen Nieren der Kontrollgruppe haben wir zur Durchführung des WILCOXON-Testes jeweils das arithmetische Mittel aus den Meßdaten beider Nieren herangezogen. In der Tabelle 2 sind die Mittelwerte der Substrate aus beiden Nieren eingezeichnet. Die Ergebnisse des WILCOXON-Testes enthält die Tabelle 6.

Tabelle 2. Kontrolltiere.

Es wurden die Substrate von beiden Nieren bestimmt, aus beiden Werten wurde das arithmetische Mittel herangezogen. Für die Durchführung des WILCOXON-Tests sind die Meßwerte nach ihrer Größe aufzeichnet. Angaben in nMol/g Frischgewebe.

Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat	ATP	ADP	AMP
n = 10	n = 10	n = 10	n = 10	n = 10	n = 10
7540	140	68	2625	1360	1046
7305	134	64	2370	1284	965
6510	130	56	2152	842	887
6340	128	56	2128	790	792
5345	104	51	1970	702	778
5270	100	51	1810	656	744
5060	93	51	1771	606	744
4275	86	50	1714	578	692
3235	82	36	1509	504	686
2485	70	23	1110	396	426
$\bar{x}$ 5336, 50	106, 70	50, 60	1915, 90	771, 80	776, 00
s_x 525, 6700	7, 8004	4, 1047	137, 4653	100, 5463	53, 8419

Tabelle 3. Substratwerte nach 5 Minuten Ischaemie. Für die Durchführung des WILCOXON-Tests sind die Meßwerte nach ihrer Größe aufgezeichnet. Angaben in nMol/g Frischgewebe.

Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat	ATP	ADP	AMP
n = 10	n = 10	n = 10	n = 10	n = 10	n = 10
8070	77	306	755	726	1979
7720	74	197	642	671	1960
7660	72	188	597	665	1895
6900	71	115	596	658	1890
6480	70	110	577	591	1851
5770	69	105	562	587	1783
5730	50	96	557	563	1766
5510	28	91	512	461	1762
5270	28	84	491	451	1720
5210	25	70	409	160	1710
$\bar{x}$ 6432,00	56,40	136,20	569,80	553,30	1831,60
s^2_x 344,7376	6,8104	23,1151	29,1779	52,0083	30,6903

Tabelle 4. Substratwerte nach 1 Stunde Ischaemie. Für die Durchführung des WILCOXON-Tests sind die Meßwerte nach ihrer Größe aufgezichtet. Angaben in mMol/g Frischgewebe.

Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat	ATP	ADP	AMP
n = 10	n = 10	n = 10	n = 10	n = 10	n = 10
10780	69	407	484	592	2230
10710	56	352	455	400	1996
9690	50	254	449	386	1993
9680	48	223	406	364	1896
9070	46	205	372	363	1839
8140	43	194	355	338	1781
7740	41	173	342	336	1727
7170	34	167	323	336	1641
7160	22	139	322	282	1620
5710	20	131	304	251	1429

$\bar{x}$	8585,00	43,00	222,50	381,20	364,80	1815,20
s^2	529,1444	4,6738	28,4676	20,1068	28,9627	72,2652

Tabelle 5. Substratwerte nach 2 Stunden Ischaemie. Für die Durchführung des WILKINSON-Tests sind die Meßwerte nach ihrer Größe aufgezichnet. Angaben in nMol/g Frischgewebe.

Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat	ATP	ADP	AMP
n = 10.	n = 9	n = 9	n = 10	n = 10	n = 10
12480	61	365	396	391	1782
10000	57	256	340	338	1779
9970	48	253	287	314	1751
9630	44	229	276	310	1719
8760	39	227	272	308	1680
8480	39	205	260	274	1622
8360	33	200	239	254	1614
7790	33	177	237	203	1540
7570	24	169	220	126	1525
7150			186	126	1386
$\bar{x}$ 9019,00	42,00	231,22	271,50	264,40	1693,80
$s^2 \bar{x}$ 495,6891	3,9616	17,4743	19,0498	27,9214	40,6048

Tabelle 6.

Ergebnisse des WILCOXON-Tests

Lactat

	G 1	G 2	G 3
G 2	-		
G 3	+	+	
G 4	+	+	-

Pyruvat

	G 1	G 2	G 3
G 2	+		
G 3	+	-	
G 4	+	-	-

Lactat/Pyruvat

	G 1	G 2	G 3
G 2	+		
G 3	+	+	
G 4	+	+	-

AMP

	G 1	G 2	G 3
G 2	+		
G 3	+	-	
G 4	+	+	-

ADP

	G 1	G 2	G 3
G 2	-		
G 3	+	+	
G 4	+	+	+

ATP

	G 1	G 2	G 3
G 2	+		
G 3	+	+	
G 4	+	+	+

+ : Gesichert auf dem 5 %-Test-Niveau

- : Nicht gesichert auf dem 5 %-Test-Niveau

Für die vergleichbaren Gruppen wurden die folgenden Abkürzungen gewählt:

- G 1 Kontrollwerte
- G 2 Meßwerte nach 5 Minuten Ischaemie
- G 3 Meßwerte nach 1 Stunde Ischaemie
- G 4 Meßwerte nach 2 Stunden Ischaemie

Das Zeichen (+) bedeutet gesichert, das Zeichen (-) nicht gesichert auf dem 5 %-Test-Niveau.

Nach 5 Minuten Ischaemie kommt es gegenüber der Kontrollgruppe zu einem rapiden Abfall von ATP. Etwa 70 % des ATP-Gehaltes geht verloren. Der Verlust an ADP beträgt ca. 28 %. Der AMP-Gehalt steigt um über 130 % an. Die glykolytische Aktivität setzt zögernd ein. Die Lactatkonzentration erhöht sich um ca. 20 %; der Anstieg ist nicht signifikant. Ursächlich hierfür dürften die relativ hohen Lactat-Gehalte in der Kontrollgruppe sein. Infolge des Abfalls der BTS um ca. 50 % steigt jedoch der Lactat/Pyruvat-Q steil an. Die Gesamtkonzentration der Adenin-Nukleotide bleibt nahezu konstant, sie erfährt lediglich einen Verlust von ca. 10 %.

Diese plötzlichen Veränderungen der Substrate in der Nierenrinde in den ersten 5 Minuten nach Unterbrechung der Blutzufuhr setzen sich in den nächsten Stunden wesentlich langsamer fort.

Zwischen G2 und G3 (5 Min - 1 Stunde Ischaemie) verringert sich der ATP-Gehalt zwar weiter signifikant, der Verlust beträgt aber nur noch ca. 30 %. 20 % ATP sind gegenüber der Kontrollgruppe noch vorhanden. Der ADP-Abfall beträgt ca. 30 %. Der AMP-Gehalt bleibt während dieser Ischaemiezeit fast konstant. Die glykolytische Aktivität, gemessen am Lactat-Anstieg, ist unverändert, bei einer Zunahme des Lactat um ca. 30 %. Der Lactat-Pyruvat-Q vergrößert sich signifikant weiter.

Die BTS-Konzentration nimmt um ca. 20 % ab, die Abnahme ist statistisch nicht mehr zu sichern. Der Gesamtgehalt der Niere an Adenin-Nucleotiden vermindert sich langsam um weitere ca. 10 %. Mit zunehmender Dauer der Ischaemie von 1 Stunde auf 2 Stunden (G 3 → G 4) registrierten wir einen signifikanten ATP-Verlust wiederum um 30 %. Das ATP verringert sich fast in der gleichen Größen-

ordnung statistisch signifikant. Das AMP nimmt dagegen nur um etwa 10 % ab, der AMP-Verlust ist statistisch nicht zu sichern. Die MS-Konzentration steigt nur langsam an (etwa 5 %); der Anstieg ist nicht signifikant, ebenso wenig wie der Verlust an BTS. Damit erfährt auch der Lactat/Pyruvat-Q gegenüber der Vergleichsserie nach 1 Stunde Ischaemie keine wesentliche Veränderung. Die Konzentration der Gesamt-Adenin-Nucleotide verringert sich gleichmäßig um ca. 15 %. Wir fanden noch etwa 60 % der Adenin-Nucleotide nach 2 Stunden Ischaemie in der Nierenrinde. Der Quotient ATP/AMP hat sich jedoch von 2,5 auf 0,7 verschoben.

Die rapiden Veränderungen in der Metabolitkonzentration während der ersten Minuten nach der Ischaemie bestätigen die Befunde von GERLACH und Mitarb. sowie THORN und Mitarb., obgleich wir die Methodik veränderten. Auch wir beobachteten nur einen verzögerten Beginn der glykolytischen Aktivität in der Nierenrinde. Bei Fortdauer der Ischaemie erfolgt der weitere Substrat-Abbau, insbesondere des Monophosphates, in der von uns gewählten Versuchsanordnung langsamer. Während die genannten Arbeitsgruppen die Ischaemie durch Abklemmung des Nierenstiels herbeiführten (die Nieren verblieben dabei im Abdomen), haben wir die Nieren entfernt und in einer feuchten Kammer bei 24 Grad C gelagert. Es trat dabei eine Abkühlung der Organe ein, und es ist anzunehmen, daß der Energieverbrauch, der von der Durchblutung ausgeschlossenen Niere insitu größer ist. Die Ergebnisse sind deshalb nur bedingt miteinander vergleichbar. Wir haben die Versuchsanordnung jedoch bewußt gewählt, um Verhältnisse zu schaffen, die mit denen der Transplantation vergleichbar sind. THORN hat die Ergebnisse der Untersuchungen nach plötzlicher Unterbrechung der Durchblutung an verschiedenen Organen (Herz, Niere und Gehirn) miteinander verglichen. Die Intensität der dann einsetzenden Glykolyse ist sehr unterschiedlich. Im Gehirn steigt die MS-Konzentration 10 bis 15 Minuten nach Unterbrechung der Blutzufuhr um 200 mg/100 g an. Im Herzmuskel ist die glykolytische Aktivität noch ausgeprägter als Folge der anaeroben Druck- und Volumen-Arbeit. Nach 4 bis 5 min Anoxie steigt die MS-Konzentration im Herzen um 500 mg/100 g an. Demgegenüber erreicht der Lactat-Anstieg der Niere nach 2 Stunden Ischaemie nicht einmal 100 %. Auf Grund unserer Ergebnisse und der soeben angeführten Vergleichszahlen der glykolytischen Aktivität glauben wir, daß man in der Niere den Funktionsstoffwechsel vom Strukturerhaltungsstoffwechsel trennen sollte. Nach dem Erliegen der oxydativen Resynthese

stellt sich die Niere im Gegensatz zum Herzmuskel und zum Gehirn auf den Erhaltungsstoffwechsel um. Der Energieverbrauch zur Strukturhaltung ist dabei gering, entsprechend langsam verläuft die anaerobe Glykolyse. Die Kombination von Funktions- und Erhaltungsstoffwechsel im Herzmuskel und Gehirn ist biologisch sinnvoll, während in der Niere ihre scharfe Trennung natürlich erscheint. Sie stellt nicht nur ein Stoffwechselorgan dar, sondern daneben eine fast rein mechanische Filtrieranlage. Letztere benötigt keinen Energieaufwand, sie hängt lediglich vom Druckgradienten und vom Zustand der Filtermembran ab. Bei Unterbrechung der Durchblutung fällt die Filtrationsleistung der Niere aus. Die Niere stellt den Funktionsstoffwechsel ein, die daraus resultierenden Veränderungen der Metabolitkonzentrationen sind nach 5 Minuten sicher erreicht, wobei der Abbau der energiereichen Phosphate nur bis zu den Monophosphaten erfolgt. Der Strukturhaltungsstoffwechsel der Niere ist gemessen am ATP-Verlust gering. Damit wird die Niere gegenüber Sauerstoffmangel sehr unempfindlich.

Von der Herzmuskelzelle weiß man (Siess), daß sie nicht wiederbelebt werden kann, wenn der ATP-Gehalt um 60 % der Ausgangskonzentration abnimmt. Diese Aussage ist bei der Niere nicht aufrecht zu erhalten, sofern man als Ausgangskonzentration das Energieniveau des Funktionsstoffwechsels zugrunde legt. Senkt man experimentell den ATP-Gehalt des Gehirns und des Herzens vergleichbar dem Verlust der ATP-Konzentration in der Niere nach 5 Minuten Ischaemie, so liegt nach vorausgegangenen Krämpfen tiefe Bewußtlosigkeit bzw. eine erhebliche Kontraktionsinsuffizienz vor.

Für die Wiederbelebung der Niere scheint das entscheidende Substrat das Monophosphat zu sein. In der Erholungspause ist die Niere bei der Resynthese der Adenin-Nucleotide ausschließlich auf die Mononucleotide angewiesen, denn alle weiteren Nucleotid-Abbauprodukte treten quantitativ ins Blut über und gehen der Niere verloren (GERLACH und DEUTICKE).

V. Elektronenmikroskopische Befunde an der Nierenrinde, vor und während der Ischaemie

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen, die zusammen mit VOGELL durchgeführt wurden, dienten als morphologische Kontrolle der aus den biochemischen Meßwerten abgeleiteten Folgerungen hinsichtlich der strukturerhaltenden Prozesse in der Nierenrinde bei fortschreitender Ischaemie.

Die Gewebsstücke wurden zu folgenden Zeiten entnommen:

1. Insitu-Entnahme bei normaler Durchblutung,
2. 1/2 Stunde nach Ischaemie,
3. 1 Stunde nach Ischaemie,
4. 2 Stunden nach Ischaemie.

Sofort nach Entnahme der 1. Probe wurden die Nieren exstirpiert und in einer feuchten Kammer bei konstanter Temperatur (24°C) gelagert. Die Gewebeproben entnahmen wir jeweils aus unversehrtem Rindenparenchym. Aus Übersichtsaufnahmen wurden vergleichbare Ausschnitte gewählt und gegenübergestellt.

Abb. 1 zeigt den Ausschnitt eines Hauptstückes einer normalen Nierenrinde. Die Mitochondrien sind zahlreich vorhanden. Die Cristae mitochondriales liegen eng beieinander. Das Cytoplasma erscheint sehr dicht und gleichförmig. Man erkennt vereinzelt Glykogengranula, die durch Bleikontrastierung sichtbar gemacht wurden. Ein Bürstensaum ist auf dieser Aufnahme nicht zu erkennen.

Abb. 2. Es handelt sich um den Ausschnitt eines Mittelstückes einer normalen Nierenrinde. Auch hier finden sich zahlreiche Mitochondrien mit eng zusammenliegenden Cristae mitochondriales. Das Cytoplasma erscheint deutlich aufgelockert, die Faltung der Membranen ist zahlreicher als im Hauptstück. Vereinzelt Glykogengranula werden auch auf diesem Bild sichtbar.

Abb. 3 gibt einen Ausschnitt aus einem Mittelstück nach einer halben Stunde Ischaemie wieder. Die Mitochondrien, ihre Cristae und die Membranen erscheinen unversehrt. Vereinzelt Glykogengranula sind noch vorhanden.

Abb. 4 zeigt den Ausschnitt eines Hauptstückes nach einer Stunde Ischaemie. Die

Mitochondrien sind unversehrt, die Cristae mitochondriales liegen noch eng zusammen, die Hüllmembranen der Mitochondrien sind überall geschlossen, lediglich das Cytoplasma erscheint etwas mehr aufgelockert, glykogenhaltige Granula sind auch jetzt noch zu erkennen.

Abb. 5 stellt den Ausschnitt eines Mittelstückes nach einer Stunde Ischaemie dar. Der lange Sauerstoffentzug hat auch hier zu keinen strukturellen Veränderungen geführt. Die Mitochondrien, ihre Cristae und ihre Membranen erscheinen normal.

Abb. 6 zeigt den Ausschnitt eines Hauptstückes nach 2 Stunden Ischaemie. Der cytoplasmatische Raum erscheint optisch leer, und es treten vermehrt Vacuolen auf. Die Matrix ist aufgehellte, die Cristae mitochondriales sind auseinanderge-drängt. Die Hüllmembranen der Mitochondrien sind überall geschlossen. Diese Veränderungen sind als beginnendes Ödem als Folge des Sauerstoffentzuges anzusehen. Am rechten oberen Bildrand erkennt man den Anschnitt eines Kerns. Wesentliche strukturelle Veränderungen an den Mitochondrien, den Cristae und den Membranen sind durch die lange Ischaemie nicht aufgetreten.

Abb. 7 enthält den Ausschnitt eines Mittelstückes nach zwei Stunden Ischaemie. Als Folge des Sauerstoffentzuges manifestiert sich eine Mitochondrienschwellung. Die Cristae mitochondriales erscheinen auseinandergedrängt, die Matrix ist aufgehellte. Die Hüllmembranen der Mitochondrien sind geschlossen. Durch die Aufhellung der Matrix ist die Struktur der Cristae mitochondriales deutlich erkennbar, sie weist keine Schädigungen auf, die auf eine Ischaemie zurückzuführen wären.

Die elektronenmikroskopischen Befunde bestätigen die biochemischen Ergebnisse und untermauern die Annahme, daß die Niere gegenüber Sauerstoffmangel sehr unempfindlich ist. Die langsam verlaufende Glykolyse deckt sich mit dem geringen Energieverbrauch der Niere zum Zwecke der Strukturhaltung. Außer den beschriebenen Ödemen, welche auf den totalen Sauerstoffentzug zurückzuführen sind, manifestieren sich keine Schädigungen am mitochondrialen Apparat der Niere und ihren Membranen.

Abb. 8 dient als Vergleich zu den morphologischen Befunden der Niere nach

Sauerstoffentzug. Sie stellt eine elektronenmikroskopische Aufnahme des Herzmuskels nach 15 min Asphyxie dar. Man sieht eine deutliche Schwellung der Mitochondrien, die auf ein Ödem zurückzuführen sind. Die Hüllmembranen der Mitochondrien sind nicht mehr in jedem Fall geschlossen. Die Verlaufsform der Myofilamente ist nicht mehr einheitlich. Cytopempsis-Bläschen als Ausdruck eines Stofftransportes zwischen Capillare und Interstitium sind nicht mehr vorhanden. Das Bild ähnelt dem des erschöpften Flugmuskels der Wespe. Der Vergleich macht deutlich, wie eng verzahnt Funktionsstoffwechsel und Strukturerhaltungsstoffwechsel an der Herzmuskelzelle sind. Demgegenüber erscheinen die Veränderungen der Nierenrinde nach 2 Stunden Ischaemie äußerst gering.

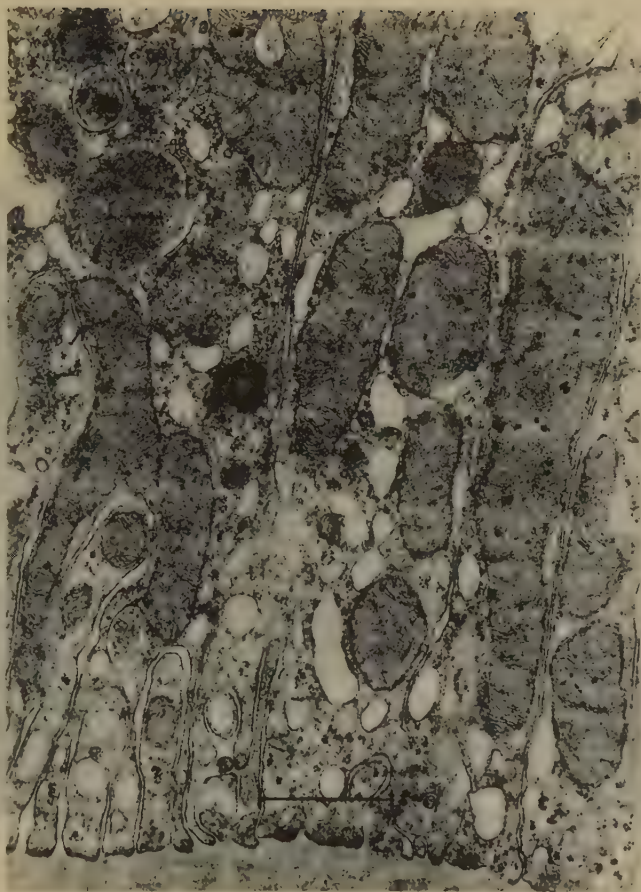


Abb. 1
Hauptstück der Nierenrinde vor der Ischaemie.
Vergrößerung 25000 : 1

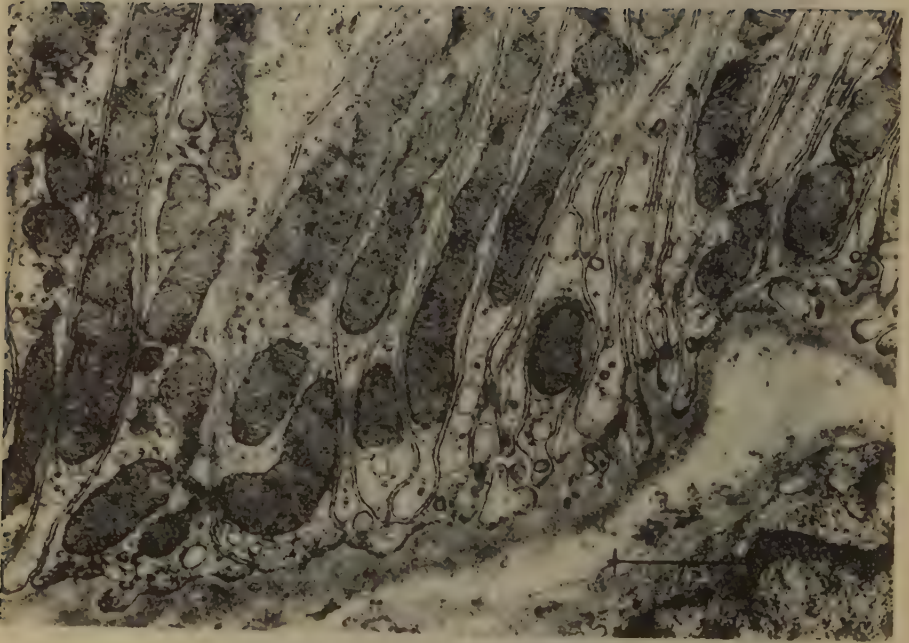


Abb. 2
Mittelstück der Nierenrinde vor der Ischaemie.
Vergrößerung 25000 : 1

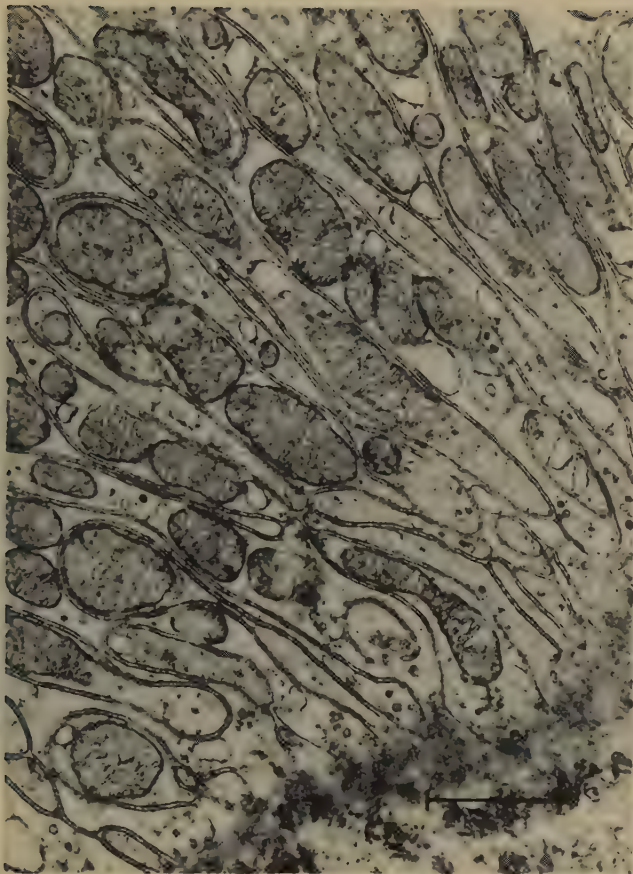


Abb. 3

Mittelstück der Nierenrinde nach 30 Minuten Ischaemie.

Vergrößerung 25000 : 1

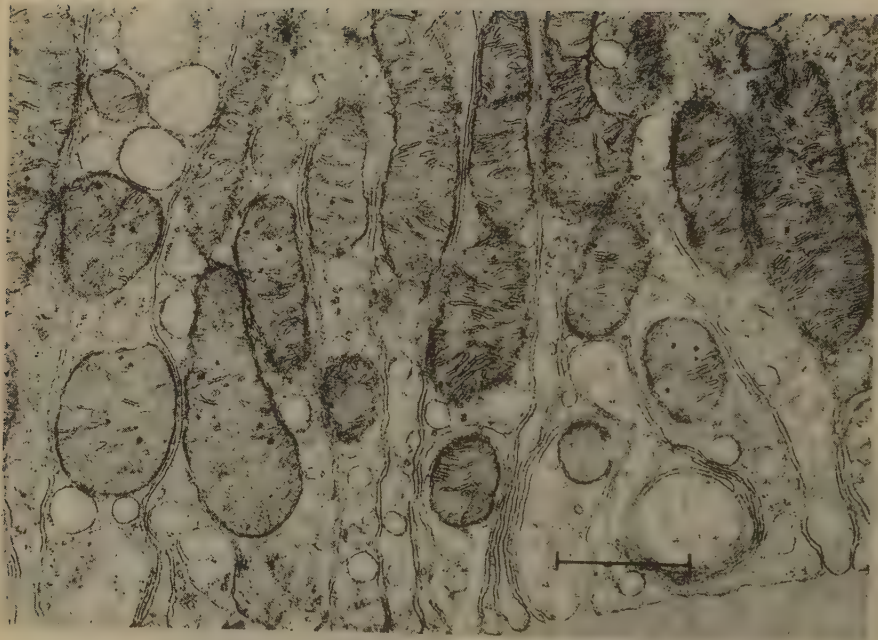


Abb. 4

Hauptstück der Nierenrinde nach 60 Minuten Ischaemie.

Vergrößerung 25000 : 1

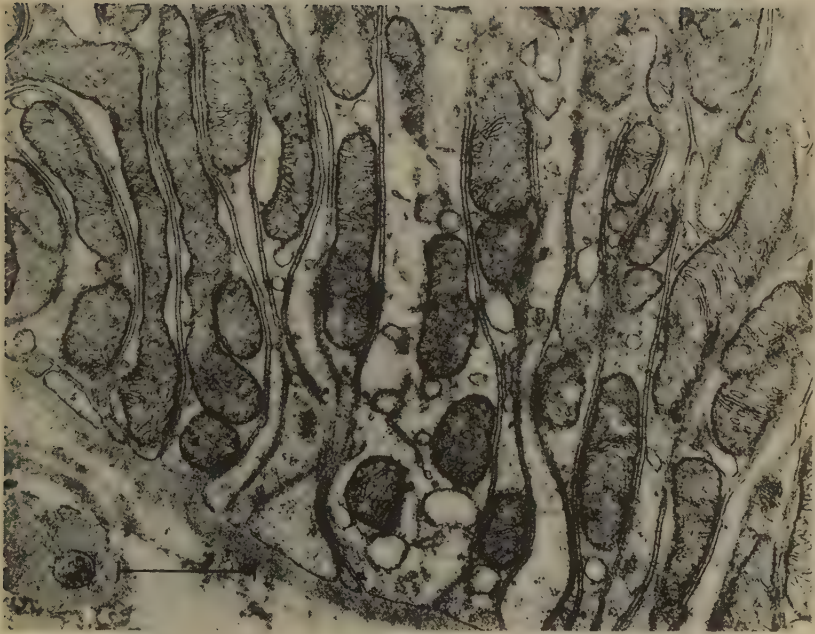


Abb. 5
Mittelstück der Nierenrinde nach 60 Minuten Ischaemie.
Vergrößerung 25000 : 1

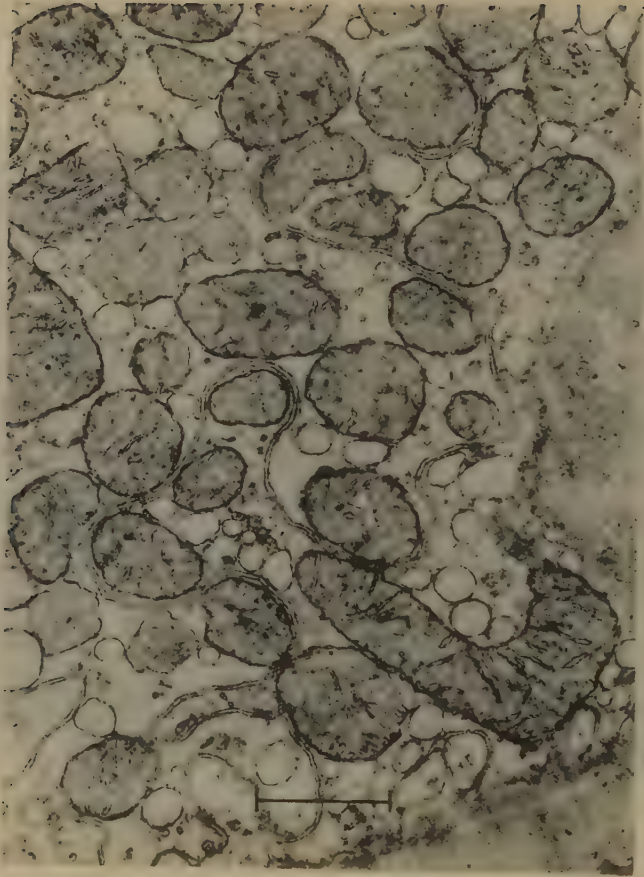


Abb. 6

Hauptstück der Nierenrinde nach 120 Minuten Ischaemie. Als Folge des Sauerstoffentzuges finden sich Mitochondrienschwellung und vermehrte Vacuolisierung des Cytoplasmas.

Vergrößerung 25000 : 1

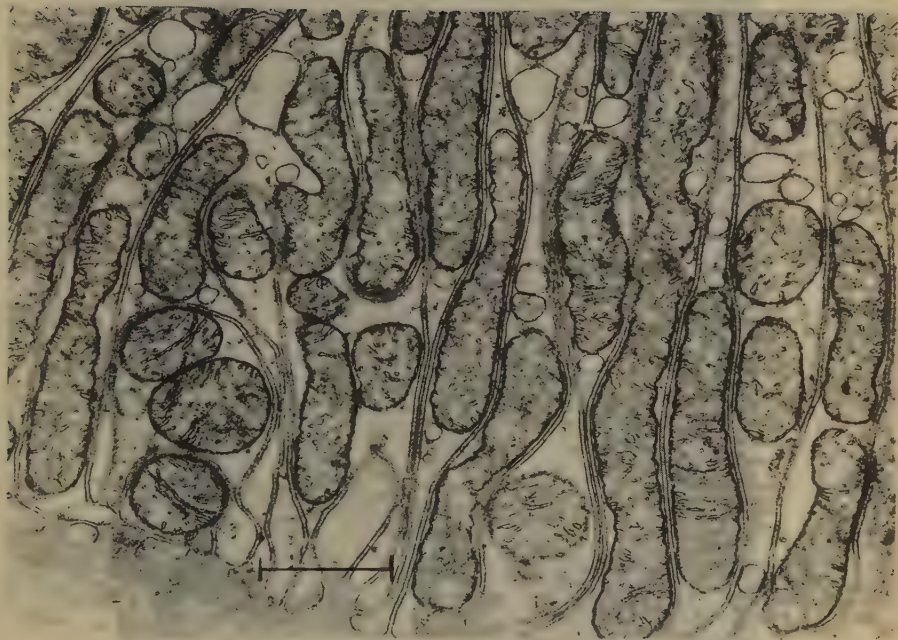


Abb. 7
Mittelstück der Nierenrinde nach 120 Minuten Ischaemie. Auf Grund des Sauerstoffentzuges bemerkt man eine Mitochondrienschwellung mit Aufhellung der mitochondrialen Matrix.
Vergrößerung 25000 : 1

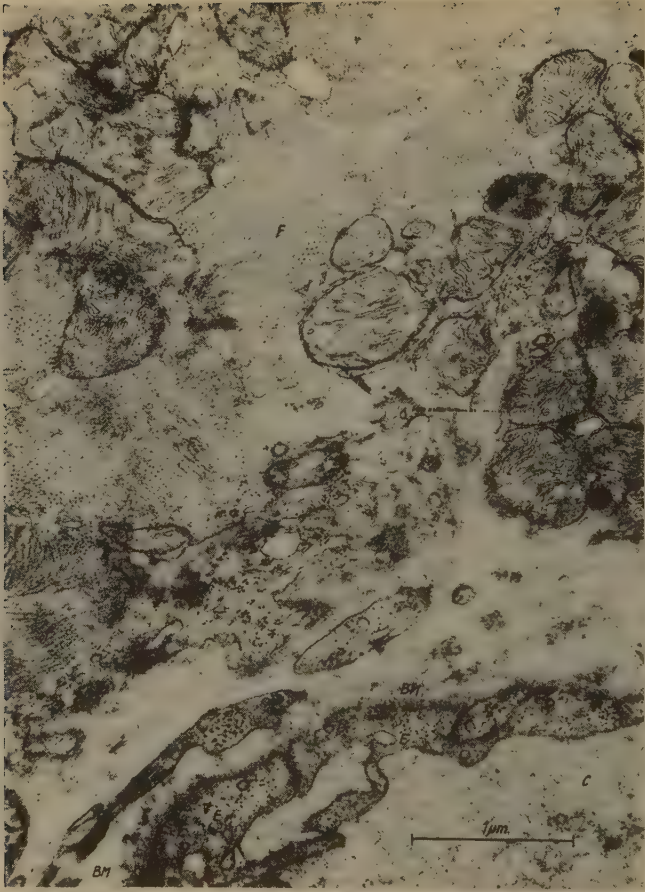


Abb. 8

Papillarmuskel nach 15 Minuten Asphyxie. Im unteren Bildrand re. Anschnitt einer Capillare (C), in deren Umgebung die Anzeichen des Oedems zu erkennen sind. Das die Muskelfaser gegen die Basalmembran abgrenzende Sarkolemm ist nicht nachweisbar. Glykogenhaltige Granula sind vereinzelt, vor allem im Capillarendothel (E) nachweisbar, jedoch keine Cytopempsisbläschen, die Ausdruck eines Stoffaustausches zwischen Capillare und Zellsystem sind (MOORE und RUSKA 1957). Die mitochondriale Matrix ist gequollen, die Hüllmembran der Mitochondrien nicht immer geschlossen. Die Anordnung der Myofilamente (F) in den Fibrillen ist unregelmäßig und läßt keine einheitliche Verlaufsform mehr erkennen.

Vergrößerung 30000 : 1

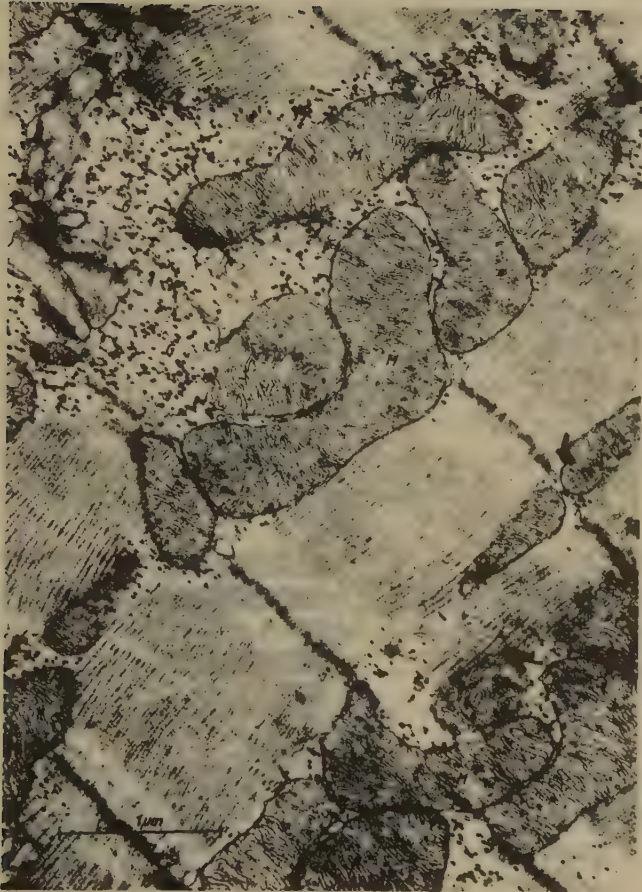


Abb. 9

Normaler Papillarmuskel eines Kaninchenherzens. Zwischen den Myofibrillen dicht liegende große Mitochondrien (M). Im Inneren derselben zahlreiche Cristae mitochondriales. Unmittelbar neben den Mitochondrien kontrastreiche Glykogengranula (G) einheitlicher Größe und Gestalt.

Vergrößerung 30000 : 1

VI. Stoffwechseluntersuchungen der Nierentransplantate.

a) Pharmakologische Vorbehandlung zur Verbesserung der Energiebereitstellung in den Transplantaten.

In vorausgegangenen Untersuchungen konnten wir biochemisch und elektronenoptisch mit SCHOEN, VOGELL und KUNZ nachweisen, daß eine Praemedikation der Ver-

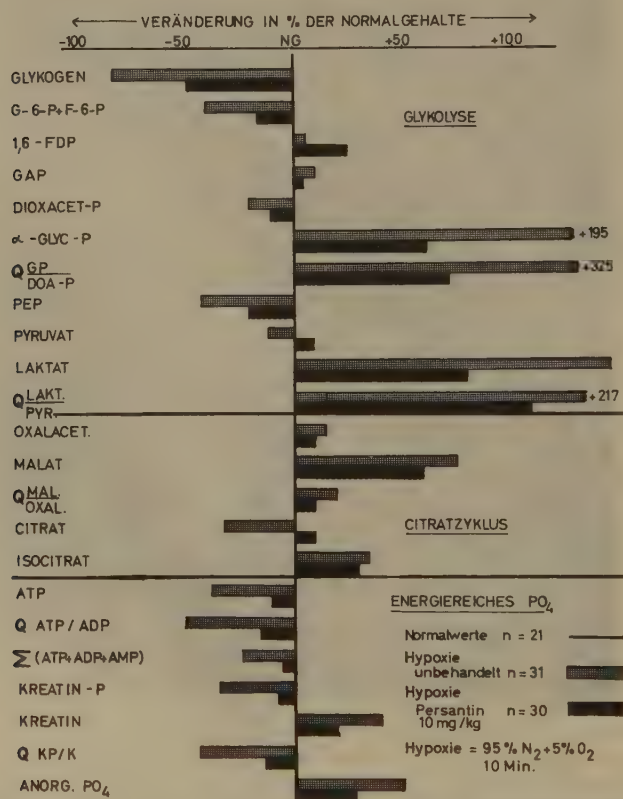


Abb. 10. Veränderungen der Substrate im Herzmuskel des Meerschweinchens nach einer 10 Minuten dauernden Hypoxie.

suchstiere mit anorg. Jod (Endojodin [®]) und Dipyridamol (Persantin [®]) die Hypoxietoleranzzeit des Herzens deutlich verlängert. Auf Abb. 10 sind die beim Meerschweinchen in Hypoxie aufgetretenen Veränderungen der einzelnen Metabolite als prozentuale Abweichung von den unpraemedizierten Normalwerten aufgetragen.

In der Hypoxie kommt es generell zum Abfall des Glykogens, zum Absinken der Mono- und zum Ansteigen der Diphosphatester. Die Wasserstoff-Transport-Metabolite α -Glycerophosphat, Lactat und Malat steigen deutlich an, während es zu einer Verminderung der energiereichen Phosphate kommt. Nach einer pharmakologischen Vorbehandlung der Versuchstiere mit Dipyridamol sind diese hypoxiebedingten Veränderungen wesentlich geringer ausgeprägt. Von den Quotienten, welche den Redox-status des NAD-Systems kennzeichnen ist der Lactat/Pyruvat-Quotient verkleinert, d.h. im Sinne eines aeroben Stoffwechsels verschoben. Auch die Metabolite des Citrat-Cyclus nähern sich normalen aeroben Verhältnissen. Besonders auffallend ist nach pharmakologischer Vorbehandlung die Verminderung des α -Glycerophosphat- und Lactatanstiegs.

Abb. 11 zeigt die beim Hund ermittelten Werte im linken Ventrikel nach Praemedikation als prozentuale Abweichung von den Mittelwerten der unvorbehandelten Hypoxiegruppe. Auffallend ist die Höhe des Energiepotentials, besonders des Kreatinphosphats nach kombinierter Jod- und Persantinbehandlung. Der Persantineffekt erfährt durch die Stoffwechseldrosselung des Jods eine Potenzierung.

Auf Grund dieser Ergebnisse haben wir die kombinierte Vorbehandlung zur Verbesserung des Energiepotentials in der Rinde der Transplantatnieren angewandt.

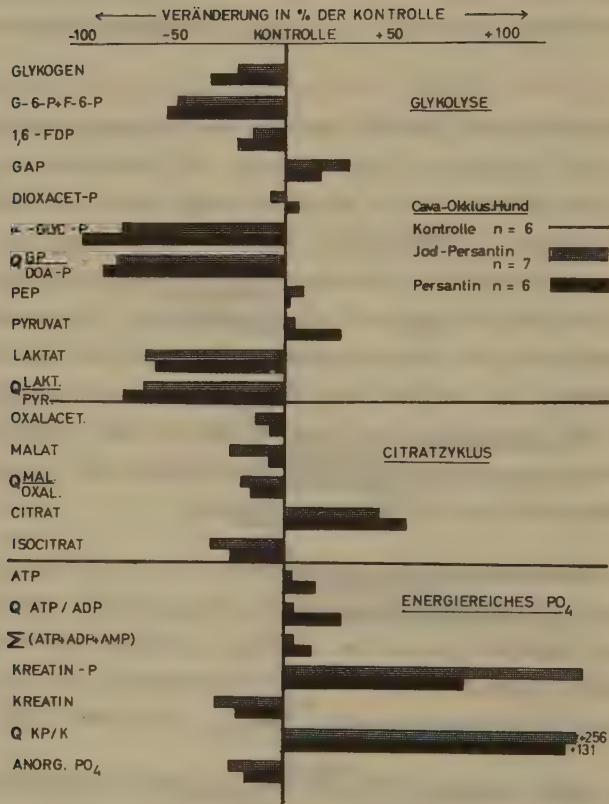


Abb. 11. Veränderungen der Metabolite im li. Ventrikel des Hundes nach inflow occlusion von 10 Minuten Dauer.

Die Wirkung des anorganischen Jods erfolgt über die Schilddrüsenfunktion und kann nur anhand der Funktion der Thyreoidea besprochen werden. Nach den Untersuchungen von SCHARF ist die Höhe des Stoffwechsels der Höhe des Thyroxinspiegels im Blut, unter Berücksichtigung des Faktors Zeit, direkt proportional. Eine Ausnahme bildet ein Adrenalindefizit, bei dem die direkte Proportionalität nicht mehr gewährleistet ist. Mit Thyroxin ist im folgenden das gesamte Spektrum der Schilddrüsenhormone gemeint. Von KUSCHINSKY und LOESER wurden vor über 30 Jahren erstmalig eine deutliche Verminderung der Thyroxinproduktion und eine Senkung des Grundumsatzes um ca. 20 % nach Gaben von anorganischem Jod beobachtet, wobei die Jodwirkung die intakte Verbindung der Hypophyse zur Schilddrüse voraussetzte. Mit Hilfe gezielter Mikroinjektionen konnten v. EULER und HOLMGREN im Hypophysenvorderlappen des Kaninchens einen spezifischen Rezeptor für den Plasmajodspiegel nachweisen. Lediglich der Hypophysenvorderlappen besitzt diese Jod-Sensibilität ⁺⁾ . Täuscht man dem Rezeptor durch Injektion von anorganischem Jod einen erhöhten Plasma-Jodspiegel vor, so wird zunächst einmal die TSH-Produktion eingeschränkt, die über die Schilddrüse zu einer Senkung des Basalstoffwechsels führt. Der Täuschungseffekt hält einige Tage vor, bis die Gegenregulation erfolgt. Die Wirkung des anorganischen Jods ist dosisabhängig und liegt zwischen 0,5 bis 10,0 mg/100 g. Das Hypothalamus-Hypophysenschilddrüsen-System wird heute als Regelkreis zusammengefaßt. Die Regelgröße ist der Stoffwechsel; Stellglied die Schilddrüse, die über ihre Thyroxinproduktion Einfluß auf den Thyroxinspiegel des Blutes und damit auch auf die Regelgröße hat. Den Regler stellen die β -Zellen im HVL dar, der durch Sekretion des TSH-Gemisches auf dem Blutweg die Stellgröße auf das Stellglied (Schilddrüse) überträgt. Als Meßeinrichtung für die Regelgröße dient der Jod-Rezeptor im HVL, der dem Regler (β -Zellen) den Meßwert vermittelt. Ein zweiter Reglerkreis übernimmt die Regelung des Schilddrüsenwachstums über das Thyreoproliferin, das von den zu T-Zellen transformierten γ -Zellen des HVL sezerniert wird und das Stellglied Schilddrüse zu vergrößern vermag, wenn die Parenchymmengen zur Deckung des Thyroxinbedarfs nicht mehr ausreichen. GREER und SCHARF haben diese Zweiphasensteuerung der

⁺⁾ Die Fähigkeit der Eminentia mediana diencephali zur Registrierung von J^{+} -Ionen und ihre Filterwirkung für das Gefäßsystem der Hypophyse kann hier unberücksichtigt bleiben.

Schilddrüse unabhängig voneinander nachgewiesen.

Die Jodwirkung beruht einmal auf einer Beeinflussung des Reglers (HVL), der seine TSH-Produktion vermindert, zum anderen entfaltet sie ihre Wirkung über das Stellglied (Schilddrüse) durch eine Hemmung der Jodase bzw. Jodinase, sobald die physiologische Höhe des Plasmajodspiegels von 20 bis 30 μ /100 ml überschritten wird. Da es sich um einen Täuschungseffekt handelt und das Jod rasch über die Niere ausgeschieden wird, kann der Jodeffekt somit nur zeitlich begrenzt seine Stoffwechselwirkung entfalten.

Die Wirkung des Persantins beruht offenbar auf zwei Faktoren. Seine gefäßerweiternde Wirkung entfaltet das Persantin auf dem Wege über das Adenosin, das beim Abbau des ATP unter Sauerstoffmangel besonders reichlich anfällt. Diese Wirkung wäre für das Gefäßsystem der Niere umgekehrt - also konstriktorisch -, wenn die Adenin-Nucleotide in der Niere wie beim Herzen über das Adenosin abgebaut würden. GERLACH u. Mitarb. konnten jedoch nachweisen, daß der Abbau in der Niere nicht über das Adenosin, sondern über das Inosin erfolgt, das keine Gefäßwirkung verursacht. Daneben bestehen aber Beziehungen zwischen Persantin und Nucleotidstoffwechsel des Herzens. Vergleichbare Untersuchungen des Stoffwechsels der Nierenrinde liegen nicht vor. HOCKERTS u. Mitarb. sahen, daß ATP im hypoxämischen Hundeherzen nach 0,5 mg Persantin/kg Körpergewicht vermehrt vorhanden ist. Ähnliche Ergebnisse beobachtete HOELSCHER am Kaninchenherzen. HOCHREIN sowie NAGANO und HOCHREIN sahen nach Verabreichung von Persantin bei Meerschweinchen während eines Sauerstoffmangels einen Anstieg des intracellulären Kaliums, der Aktivität von Hexokinase, Aldolasen, Isozitat- und Malat-Dehydrogenasen, außerdem einen Abfall von Natrium und Glukose-6-Phosphat sowie der Lactat-Dehydrogenasen, was für eine Normalisierung des unter Sauerstoffmangel gestörten Abbaus der Kohlenhydrate spricht.

Nach Abklemmen der Aorta im extracorporalen Kreislauf beschrieben EKESTRÖM und Mitarb. nach Persantin-Injektionen einen Anstieg der ATP-Konzentration und eine ausgeglichene a.v.-Bilanz für MS und BTS.

LAUDAHN beobachtete nach Persantingaben in vitro eine bessere O_2 -Utilisation bei geschädigten Sarkosomen des Rinderherzens. LAMPRECHT teilte einen ähnlichen

Befund am Hundeherzen mit. In den Mitochondrien der Rattenleber beschrieben FRIMMER und Mitarb. eine konzentrationsabhängige Senkung der kritischen O_2 - und Halbwertdrucke. Bei CO_2 -Vergiftung der Maus sahen sie eine raschere Erholung nach Persantin, als Folge einer günstigen Beeinflussung der Gewebsatmung. MÖLBERT konnte durch Persantin die hypoxiebedingten Enzymverschiebungen im Rattenherzen verhindern. Wir selbst fanden gemeinsam mit VOGELL bei den prämedizierten Tieren nach 6 min Asphyxie am Herzmuskel der Kaninchen elektronenmikroskopisch kaum Abweichungen vom Normalbild, ganz im Gegensatz zu den Kontrolltieren nach 6 min Sauerstoffentzug.

THORN beschrieb nach Persantingaben im Kaninchenherzen einen verzögerten Gyrogenabfall. WEZLER sah nach steigenden Dosen eine Erhöhung des kontraktilen Tonus des Froschherzens mit Verminderung der enddiastolischen Füllung.

STESS fand unter dem Einfluß von Persantin einen verzögert eintretenden diastolischen Erschöpfungszustand am isolierten Herzvorhofpräparat. Die energiereichen Phosphate wurden schneller resynthetisiert und damit die Erholungszeit verkürzt. SIESS sowie KUNZ und Mitarb. glauben auf Grund ihrer Ergebnisse, daß Persantin direkt oder über DPNH in die Atmungskettenphosphorylierung katalytisch eingreift. GERLACH und Mitarb. vermuten nach Persantin eine Hemmung des Abbaus von Adenosin und führen darauf die coronarerweiternde Wirkung des Pharmakon zurück.

EMMONS und Mitarb. beobachteten beim Menschen und Kaninchen eine Reduzierung der Thrombocytenaggregationen in Blut und Plasma nach Persantin. Mit Hilfe von Persantin-Injektionen konnten FERBER und Mitarb. die Aktivität der Membranalysophospholipase auf das 2- bis 3fache steigern, und sie diskutierten einen membranstabilisierenden Effekt des Präparates. GERLACH und Mitarb. sowie DEUTICKE und Mitarb. vermuten, daß Persantin auf Störungen der Mikrozirkulation günstig einwirkt, sofern diese durch Erythrocytenaggregation verursacht werden.

b) Bestimmung der Adenin-Nukleotide in der Nierenrinde vor, während und nach der Transplantation.

Es wurden zwei Versuchsgruppen gebildet, bestehend aus jeweils 6 Hunden. 6 Versuchstiere wurden pharmakologisch vorbehandelt, die restlichen 6 Tiere dienten als Kontrollkollektiv.

Als Praemedikation wurde den Versuchstieren 70 mg/kg KG anorg. Jod (Endojodin [®]) und 3 mg/kg KG Dipyridamol (Persantin [®]) am Vorabend der Transplantation i.v. verabreicht. Die gleichen Pharmaka wurden 1 Stunde vor der geplanten Operation in derselben Dosierung nochmals i.v. appliziert. Die Narkose wurde bei allen Tieren standardisiert, um möglichst gleiche Bedingungen für die Transplantation zu schaffen. Die eingehende Beschreibung der Narkose und des operativen Vorgehens erfolgte im Kapitel Methodik. In jeder dieser beiden Versuchsanordnungen wurden die Substratbestimmungen unter drei verschiedenen Versuchsbedingungen durchgeführt.

1. Sofortwerte durch Polresektion bei intakter Durchströmung
2. Meßwerte nach einer Ischaemiedauer von 40 Minuten
3. Meßwerte nach einer Ischaemiedauer von 100 Minuten und anschließender Durchströmung des Transplantates von 15 Minuten.

Nach Aufzeichnung der Meßwerte erfolgte die statistische Auswertung.

Statistische Bewertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der statistischen Bewertung haben wir in den Tabellen 7-11 zusammengestellt. Für die beiden Versuchsanordnungen und die jeweils drei Versuchsbedingungen wählten wir die folgende Bezeichnung:

- G1 Kontrollwerte; praemediziert,
- G2 nach 40 min Ischaemie
- G3 15 Minuten nach Wiederanschluß des Transplantates,
- G4 Kontrollwerte (nicht praemediziert),
- G5 nach 40 min Ischaemie,
- G6 15 min nach Wiederanschluß des Transplantates.

In den Tabellen 7 bis 10 sind die Meßwerte für jedes Substrat und für jede dieser 6 Gruppen die beobachteten arithmetischen Mittel und die mittleren Fehler dieser arithmetischen Mittel zusammengestellt.

Die eigentliche statistische Bewertung, ob zwischen den verschiedenen Versuchsanordnungen unter den verschiedenen Versuchsbedingungen statistisch faßbare Unterschiede hinsichtlich der arithmetischen Mittel vorliegen, wurden mit Hilfe des parameterfreien WILCOXON-Testes durchgeführt.

Tabelle 11 stellt das Ergebnis des WILCOXON-Testes für den Vergleich zwischen je zwei der 6 Gruppen dar. Das Ergebnis für einen speziellen Vergleich zwischen 2 Gruppen steht jeweils an der Kreuzungsstelle derjenigen Zeile und Spalte, welche durch die entsprechende Gruppenbezeichnung gekennzeichnet sind. Um deutlich zu machen, welche Vergleiche innerhalb der gleichen Versuchsanordnung unter verschiedenen Versuchsbedingungen durchgeführt worden sind, haben wir die Schemata der Tabelle 11 durch waagrechte und senkrechte Striche in drei Felder eingeteilt. Das Feld links oben bezieht sich jeweils auf den Vergleich der verschiedenen Versuchsbedingungen innerhalb der 1. Versuchsanordnung (Praemedikation). Das Feld rechts unten entspricht dem Vergleich zwischen den verschiedenen Versuchsbedingungen in der 2. Versuchsanordnung (ohne Praemedikation). Das Feld links unten schließlich stellt den Vergleich zwischen den verschiedenen Versuchsbedingungen und den beiden Versuchsanordnungen dar.

Tabelle 7. Hundenieren. Substratwerte der Kontrollgruppe. Angaben in nMol/g Frischgewebe.
 Pa in μ Mol/g Frischgewebe.

Normalwerte.

Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat	ATP	ADP	AMP	Pkr	Pa
2300	86	27	620	625	985	368	1,73
1627	59	28	821	566	937	226	1,99
3900	248	16	595	527	1022	562	2,70
1760	64	27	461	593	850	452	2,62
2300	76	30	731	499	728	463	2,11
1920	72	27	698	511	835	202	3,23

$\bar{x}$	2301,17	100,83	25,83	654,33	533,50	892,83	378,83	2,40
s_x	339,0634	29,6832	2,0234	50,8722	20,2546	44,5267	57,9462	0,2257

Nach 40 Minuten Ischaemie.

3565	33	108	258	426	1453	140	3,09
7000	20	350	208	535	1526	87	5,24
6600	68	97	238	366	1736	156	11,71
10610	81	131	256	507	1215	104	8,56
6100	88	70	268	508	1325	98	8,23
7300	79	92	240	487	1415	117	7,59

$\bar{x}$	6862,50	61,50	141,33	244,67	471,50	1445,00	117,00	7,40
s_x	926,9643	11,4971	42,5235	8,6820	25,6821	72,9168	10,23881	1,2095

Tabelle 8.

Substratwerte der Kontrollgruppe. Hundenieren.

Angaben in nMol/g Frischgewebe.

Pa in μ Mol/g Frischgewebe.

15 Minuten nach Durchblutung des Transplantates. Gesamtschaemiezeit ca. 100 Minuten.

Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat	ATP	ADP	AMP	Pkr	Pa
2265	92	25	461	424	981	17	3,91
1280	107	12	426	423	837	104	1,72
4450	77	58	238	366	1090	-	5,41
7580	186	41	256	422	763	+	4,51
3180	89	35	381	411	827	163	3,21
4210	95	44	345	398	888	183	3,78

$\bar{x}$	3827,50	107,67	35,83	351,17	407,33	879,67	117,00	3,76
s^2	893,7839	16,1569	6,5085	36,7218	9,2147	48,5933	10,7703	0,5090

Tabelle 9. Hundenieren. Substratwerte des praemedizierten Kollektivs.Angaben in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewebe.
Pa in $\mu\text{Mol/g}$ Frischgewebe.Normalwerte.

Lactat	Pyruvat	Lactat/Pyruvat	ATP	ADP	AMP	Pkr	Pa
3565	139	26	876	1060	995	326	2,68
2917	99	29	858	567	854	297	1,72
3590	198	18	818	636	879	365	2,55
1666	83	20	1158	647	877	208	3,16
2625	215	12	1405	895	770	207	4,48
2120	118	18	1059	731	1019	173	3,42

x	2747,00	142,00	20,15	1029,00	756,00	899,00	262,67	3,00
s-x	315,5635	21,8937	2,5000	92,3919	76,2373	37,9324	31,5115	0,3802

Nach 40 Minuten Ischaemie.

1629	56	30	304	656	1131	275	5,27
3880	-	-	274	451	866	206	5,72
4180	90	46	375	451	1147	104	3,70
5520	55	101	322	421	1605	204	8,18
3241	44	74	376	423	1587	174	5,78
6940	72	96	290	395	1570	106	8,66

x	4231,67	63,40	69,40	323,50	466,17	1317,67	178,17	6,22
s-x	750,0334	8,000	13,8333	17,6668	38,9293	127,3770	26,7985	0,7636

Tabelle 10. Hundenieren. Substratwerte des praemedizierten Kollektivs. Angaben in nMol/g Frischgewebe.
Pa in μ Mol/g Frischgewebe.

15 Minuten nach Durchblutung des Transplantates, Gesamtschaemiezeit ca. 100 Minuten.

Lactat	Pyruvat.	Lactat/Pyruvat	ATP	ADP	AMP	Pkr	Pa
5460	113	48	372	646	1132	117	3,06
3360	142	24	341	459	880	169	2,26
1879	123	15	580	338	722	156	2,98
3490	129	27	426	480	906	35	3,07
1645	110	15	478	310	963	157	2,71
6560	79	83	299	525	978	268	2,79
$\bar{x}$ 3735,33	116,00	35,33	416,50	459,67	930,17	150,33	2,81
s^2 793,7935	8,7712	10,7352	41,6639	50,5323	54,9354	30,9210	0,1254

Tabelle 11.

Ergebnisse des WILCOXON-Tests.

Lactat

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5
G 2	-				
G 3	-	-			
G 4	-	-	-		
G 5	+	-	+	+	
G 6	-	-	-	-	-

Pyruvat

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5
G 2	+				
G 3	-	+			
G 4	-	-	-		
G 5	+	-	+	-	
G 6	-	+	-	-	+

Lactat/Pyruvat

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5
G 2	+				
G 3	-	-			
G 4	-	+	-		
G 5	+	-	+	+	
G 6	-	-	-	-	+

ATP

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5
G 2	+				
G 3	+	-			
G 4	+	+	+		
G 5	+	+	+	+	
G 6	+	-	-	+	-

Tabelle 11. (Fortsetzung)

Ergebnisse des WILCOXON-Tests

ADP

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5
G 2	+				
G 3	+	-			
G 4	+	-	-		
G 5	+	-	-	-	
G 6	+	-	-	+	-

AMP

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5
G 2	+				
G 3	-	-			
G 4	-	+	-		
G 5	+	-	+	+	
G 6	-	+	-	-	+

Plkr

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5
G 2	-				
G 3	+	-			
G 4	-	+	+		
G 5	+	-	-	+	
G 6	+	-	-	+	-

Pa

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5
G 2	+				
G 3	-	+			
G 4	-	+	-		
G 5	+	-	+	+	
G 6	-	-	-	-	-

+ : Gesichert auf dem 5 %-Test-Niveau

- : Nicht gesichert auf dem 5 %-Test-Niveau

Die Ergebnisse der biochemischen Meßdaten der Nierentransplantate und ihre statistische Auswertung sind in den Tabellen 7 bis 11 zusammengefaßt. Wegen der komplizierten Versuchsanordnung ist die Zahl der Meßwerte gering. Es mußte jedoch eine strenge Auswahl der Transplantate vorgenommen werden, um vergleichbare Substratwerte zu erhalten. Neben den exakten Gefäß- und Ureteranastomosen mußten die Ischaemiezeiten bis zum Wiederanschluß des Transplantates übereinstimmen. Aus diesem Grunde mußten einige Meßdaten verworfen werden. Außerdem erschwerte die teilweise große Schwankung der gefundenen Werte die statistische Berechnung. Sie kann sicher nur durch eine Vergrößerung der Zahl der Versuchsdaten ausgeglichen werden. Daneben mußten wir auf die in-situ-Quetscheinfrörierung verzichten, weil sonst die exakte Versorgung der Parenchymwunden der Nierenrinde nicht gewährleistet war. So vergingen von der Entnahme der Gewebeproben bis zum Wiedereinbringen in flüssigen Stickstoff ca. 5 sec. Wir wissen aus den vorhergegangenen Untersuchungen, daß es in dieser Zeit schon zu erheblichen Veränderungen der Metabolitkonzentration kommen kann. Die Werte sind somit nicht als absolute Meßdaten aufzufassen, sondern nur vergleichsweise zu würdigen. Die reale Metabolitkonzentration in der Hundeniére liegt über der hier angegebenen.

Unter ischaemischen Bedingungen verhalten sich die untersuchten Substrate der Hundeniére ebenso charakteristisch, wie die Substrate der Kaninchenniére. Die Nierenrinde des Hundes verfügt zwar über PKr, aber der ATP-Verlust kann durch Spaltung des PKr nicht wie in der Herzmuskelzelle aufgefüllt werden. Die Meßwerte des PKr dürften auch hier vorwiegend aus der Muscularis der intrarenalen Gefäße stammen und nur zum Teil aus dem Parenchym der Nierenrinde. Die Dephosphorylierungsprozesse verlaufen nach der Unterbrechung der Blutzufuhr analog denen in der Kaninchenniére. Der ATP-Verlust erfolgt rapide, der ADP-Schwund vollzieht sich langsamer.

Gleichzeitig registriert man wieder einen raschen Anstieg von AMP. Nach 40 Minuten dauernder Ischaemie liegt nur ca. 35 % ATP der schon leicht deprimierten Ausgangskonzentration vor, während das AMP im gleichen Zeitabschnitt um ca. 60 % zugenommen hat. Der Abfall von ATP und der Anstieg von AMP ist statistisch zu sichern. Die Gesamt-Konzentration der Adenin-Nucleotide hat sich nach

40 Minuten dauernder Ischaemie als Folge des schon erniedrigten Ausgangswertes nicht verändert. Der Abbau der Triphosphate in der Hundeniere geht wie in der Kaninchenniere über das Diphosphat zum Monophosphat, und wiederum wird der weitere Abbau über das AMP hinaus zeitlich stark verzögert.

Die glykolytische Aktivität setzt in der Hundeniere im Vergleich zur Myocardzelle und Gehirn, langsam ein. Die Geschwindigkeit des glykolytischen Umsatzes ist jedoch entsprechend den Werten von THORN in der Kaninchenniere zögernder, während ihre Intensität gegenüber den eigenen Befunden in der Kaninchenniere zugenommen hat. Der letzte Vergleich ist jedoch nur bedingt zu verwerten, da die Ausgangskonzentration des Lactat in der Kaninchennierenrinde bei uns höher liegt.

Entsprechend der Zunahme des Energiedefizits steigt das Orthophosphat durch Abspaltungen aus den organischen Verbindungen statistisch sicher an.

Nach einer Ischaemiedauer von 100 Minuten und anschließender Wiederdurchblutung des Transplantates von 15 Minuten ist eine gewisse Resynthese der Substrate zu bemerken. Der ATP-Gehalt liegt schon jetzt im Mittel über demjenigen nach 40 Minuten Ischaemie. Der Unterschied ist allerdings statistisch nicht zu sichern; eine Tatsache, die nicht erstaunt, zumal zwischen den Vergleichsdaten eine zusätzliche Ischaemiezeit von 60 Minuten liegt. Das Endprodukt der anaeroben Glykolyse: das Lactat ist deutlich abgesunken, ebenso das Orthophosphat. Der Lactat/Pyruvat-Q als Vergleichsgröße des Redoxpotentials ist statistisch sicher kleiner geworden. Die Quotienten der Adenin-Nucleotide verschieben sich langsam wieder zugunsten der energiereichen Triphosphate. Diese Veränderungen der Metabolitenkonzentration sprechen für eine relativ rasche Erholung der Transplantate auch nach längerer Ischaemie. Unsere biochemischen und elektronenmikroskopischen Befunde an der Kaninchenniere unter ischaemischen Bedingungen werden durch diese Ergebnisse untermauert. Die Wiederaufnahme der Funktion der Transplantate ist von den strukturellen Schäden der Niere durch die Ischaemie abhängig; sie sind nach einem zweistündigen Sauerstoffentzug gering, weshalb zu erwarten ist, daß das Transplantat auch nach längerer Ischaemiezeit die Funktion wieder aufnimmt.

In der Erholungsphase ist die Niere bei der Resynthese der Adenin-Nucleotide auf

das Monophosphat angewiesen. Die Konzentration des AMP wird u.E. entscheidend für die Dauer der Erholungszeit. Der Abbau der Substrate erfährt nach unseren ermittelten Meßdaten zunächst eine Hemmung beim Monophosphat. Diese Abbauphemmung der säurelöslichen P-Verbindungen erscheint uns immer mehr das entscheidende Kriterium für die Wiederbelebung der Niere nach Sauerstoffentzug zu werden.

Die auf der Anaerobiose beruhenden Veränderungen der Metabolite sind für die Organbeschaffung der Nieren und für ihre Konservierung von großem Interesse. Es erscheint uns unmöglich, durch Manipulationen bei der Entnahme der Nieren das hohe Energieniveau des Funktionsstoffwechsels zu fixieren. Demgegenüber verhält sich die Konzentration der Metabolite während des Erhaltungsstoffwechsels in den ersten 30 Minuten der Ischaemie nach Einstellung des Funktionsstoffwechsels recht konstant.

Es spielt daher u.E. keine so große Rolle, ob die Organentnahme 5 oder 15 Minuten nach Kreislaufstillstand erfolgt; man kann sich also bei der Organentnahme Zeit lassen, den Tod des Spenders abwarten und auf eine sorgfältige Praeparation der Niere achten. Aus den angeführten Gründen erscheint uns auch die Organgewinnung von lebenden Spendern bei menschlichen Transplantationen energetisch keine wesentlichen Vorteile zu bringen. Mit ihrem geringen Strukturerhaltungsstoffwechsel erfüllt die Niere außerdem eine Bedingung, die man gemeinhin mit der künstlichen Hypothermie zu erreichen versucht. Durch physikalische Senkung des Energieverbrauchs wird bei der Unterkühlung die Wiederbelebungszeit verlängert. Der Energieverbrauch der Nieren zur Erhaltung der Struktur ist in der Anaerobiose, gemessen am ATP-Verlust, aber schon so gering, daß oberflächliche Unterkühlungen u.E. keine wesentlich günstigeren Bedingungen erzielen können, zumal sie nicht in der Lage sind, das Energiedefizit aufzuhalten, wie wir es von der Myocardzelle wissen. Um es in der Nierenrinde aufzuhalten bedarf es wahrscheinlich einer Tiefkühlung oder aber einer Perfusion mit geeigneten Lösungen.

Wir versuchten das Energieniveau der Nierenrinde durch pharmakologische Vorbehandlung der Versuchstiere anzuheben. Die Meßwerte des praemedizierten Kollektivs sind bei gleicher Methodik in der Tabelle 9 und 10 aufgetragen. Da der

empfindliche Indikator gegenüber Sauerstoffmangel in der Niere nicht wie im Herzmuskel das PKr sondern das ATP ist, muß sich eine verbesserte Energiebilanz zunächst an den Meßwerten des ATP manifestieren. Der ATP-Gehalt der Kontrollwerte des praemedizierten Kollektivs liegt über dem der vergleichbaren Gruppe der nicht vorbehandelten Serie. Dadurch erhöht sich ebenfalls die Gesamt-Konzentration der Adenin-Nucleotide. Die Erhöhung der ATP-Konzentration ist statistisch zu sichern. Das gleiche gilt für die Diphosphate. Wir schließen daraus, daß es pharmakologisch möglich ist, den Energieverlust bei der Organentnahme zu verringern. Die reale Konzentration des ATP der Hundeniere nach insitu-Quetscheinfrierung gleicht derjenigen des praemedizierten Kollektivs, bei dem wir auf die insitu-Quetscheinfrierung verzichten mußten.

Bei zunehmender Dauer der Ischaemie vollziehen sich die Metabolitveränderungen in beiden Gruppen gleichartig. Nach 40 Minuten Sauerstoffentzug registriert man bei der praemedizierten Gruppe einen ATP-Verlust von ca. 70 %, bei dem nicht vorbehandelten Kollektiv von ca. 65 %. Durch den fast gleichen Abfall der ATP-Konzentration bedingt, findet man nach 40minütiger Ischaemie bei der pharmakologisch vorbehandelten Gruppe einen höheren ATP-Gehalt. Der Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe ist statistisch signifikant. Das AMP steigt beim praemedizierten Kollektiv nach der genannten Ischaemiedauer um ca. 50 % an, bei der Kontrollgruppe um ca. 60 %. Der Anstieg des AMP bei der geringen Zahl der Meßwerte ist ähnlich und vergleichbar. Lediglich der Lactat-Anstieg ist bei der vorbehandelten Gruppe, im Gegensatz zur Kontrollgruppe, statistisch nicht zu sichern. Der Befund deutet, bei vorsichtiger Interpretation, auf eine Verlangsamung der anaeroben Glykolyse hin.

Die Dephospholyrierung vollzieht sich in beiden Gruppen gleich, aber das Energieniveau erscheint nach 40 Min. Ischaemie bei dem vorbehandelten Kollektiv angehoben, dadurch müßte sich die Erholungszeit verkürzen.

In der Erholungsphase nach 100 Min. Ischaemie und 15 Minuten dauernder Wiederdurchblutung des Transplantates nähern sich in beiden Gruppen die Metabolitkonzentrationen. Die Meßwerte des ATP und der Gesamt-Adenin-Nukleotide liegen im Mittel bei der praemedizierten Tiergruppe höher, eine Tatsache, die für eine kürzere Erholungsphase sprechen könnte. Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen

sind jedoch statistisch nicht zu sichern.

Die Stoffwechselwirkung der benutzten Pharmaka scheint sich in der Niere nicht von der an der Myocardzelle oder im Gehirn zu unterscheiden.

C. Überlebenszeit und Funktion der Transplantate nach pharmakologischer Vorbehandlung.

Nach den Ergebnissen der biochemischen Untersuchungen in dem vorangegangenen Abschnitt scheint es möglich zu sein durch Praemedikation der Versuchstiere mit anorg. Jod (Endojodin) und Dipyridamol (Persantin) den Energieverlust der ischaemischen Niere, gemessen am ATP-Gehalt, zunächst zu verzögern.

Deshalb wurden in den nun folgenden Versuchen die Versuchstiere wie vorher beschrieben pharmakologisch vorbehandelt.

Das Versuchskollektiv umfaßte 22 Hunde. Die Transplantation erfolgte in die fossa iliaca. Die End-zu-End-Anastomosierung der Gefäße wurde beibehalten. Zusätzlich wurde auch die kontralaterale Niere des Empfängertieres entfernt, so daß die transplantierte Niere sofort die gesamte Ausscheidungsfunktion übernehmen mußte, deren Beginn an der Urinausscheidung leicht festzustellen war.

Die Ergebnisse der Versuchsgruppe sind in der folgenden Tabell (12) zusammengestellt. Die Ischaemiedauer der Transplantate schwankte zwischen 90 und 180 Minuten. Von den 22 Versuchstieren konnte bei 7 Tieren postoperativ keine Urinsekretion beobachtet werden. Ein Tier verblutete aus dem Milzstiel. Die Hunde Nr. 1 und 13 erwachten nach der Operation nicht mehr aus der Narkose. Bei den Tieren Nr. 19 und 20 kam es zu einer Nachblutung aus den Gefäßanastomosen.

Läßt man die Tiere unberücksichtigt, bei denen die Urinsekretion nicht in Gang kam, dann liegt die Überlebenszeit der Versuchstiere in dieser Gruppe zwischen 4 und 26 Tagen. Es besteht zwischen der Dauer der Ischaemie und der Überlebenszeit keine direkte Korrelation. Das Versuchstier Nr. 21, dessen Transplantat der kürzesten Ischaemie ausgesetzt war, überlebte 20 Tage, das Tier mit der längsten Ischaemiedauer des Transplantates (Nr. 18) 16 Tage. Das Transplantat des Versuchstieres (Nr. 16), das postoperativ 26 Tage lebte, war einer Ischaemie von 150 Minuten ausgesetzt.

Die Überlebensdauer von wenigen Tagen muß ursächlich, wie es die Obduktion bestätigte, auf einen Durchblutungs-mangel des Transplantates sowie auf septische

Tabelle 12. 22 Hunde.

Ipsilaterale heterotrope Transplantation in die rechte fossa iliaca. Beide Nieren des Empfängertieres wurden in gleicher Sitzung entfernt. Sämtliche Transplantate wurden perfundiert.

Versuch Nr.	Gewicht der Tiere	Dauer der Nieren- ischämie	Funktion des Transplantates	Postoperative Über- lebenszeit der Tiere
1	20 kg	115 Minuten	keine Sekretion	2 Stunden
2	21 kg	120 "	keine Sekretion	48 Stunden
4	22 kg	145 "	keine Sekretion	48 Stunden
13	18 kg	120 "	keine Sekretion	5 Stunden
14	20 kg	150 "	keine Sekretion	24 Stunden
19	26 kg	180 "	keine Sekretion	18 Stunden
20	28 kg	160 "	keine Sekretion	24 Stunden
9	18 kg	120 "	nach der Op. aus dem verletzten Milzstiel verblutet	
3	19 kg	135 "	Sekretion +	8 Tage
5	18 kg	160 "	Sekretion +	5 Tage
6	20 kg	155 "	Sekretion +	5 Tage
7	22 kg	125 "	Sekretion +	6 Tage
8	24 kg	140 "	Sekretion +	9 Tage
11	19 kg	180 "	Sekretion s. Kurve	4 Tage
12	17 kg	120 "	Sekretion s. Kurve	6 Tage
15	18 kg	120 "	Sekretion s. Kurve	5 Tage
10	20 kg	150 "	Sekretion s. Kurve	18 Tage
16	17 kg	150 "	Sekretion s. Kurve	26 Tage
17	24 kg	165 "	Sekretion s. Kurve	14 Tage
18	25 kg	180 "	Sekretion s. Kurve	16 Tage
21	24 kg	90 "	Sekretion s. Kurve	20 Tage
22	21 kg	120 "	Sekretion s. Kurve	16 Tage

Komplikationen zurückgeführt werden, während die 6 Versuchstiere, welche 14 bis 26 Tage überlebten einer immunologisch bedingten Transplantatabstoßung zum Opfer fielen.

Die Ischaemietoleranzzeit der Niere in Normothermie beträgt nach MURRAY und HOLDEN sowie CALNE und Mitarb. ca. 2 1/2 Stunden. Die von uns beobachtete Toleranzzeit nach pharmakologischer Vorbehandlung liegt bei etwa 3 Stunden. Die maximale Ischaemietoleranzzeit wurde von uns nicht bestimmt. Sie liegt wahrscheinlich jenseits der 3-Stunden-Grenze. Man ist erstaunt, wie schnell die Niere, auch nach längerem totalen Sauerstoffentzug, nach Wiederfreigabe des Kreislaufes mit der Sekretion beginnt. Nach einigen Minuten kam es bei gut durchgängigen Anastomosen der Nierengefäße zur ersten Urinsekretion der transplantierten Niere. Die postischaemische Schwellung der transplantierten Niere war in unseren Versuchen gering, so daß wir auf eine Dekapsulierung des Organs verzichten konnten. Die Ergebnisse der Harnstoff-N - und Kreatininbestimmungen im Serum sind in den folgenden Abbildungen aufgeführt:

Abb. 12 Meßwerte der Versuchstiere Nr. 10 und 11

Abb. 13 Meßwerte der Versuchstiere Nr. 12 und 15

Abb. 14 Meßwerte der Versuchstiere Nr. 16 und 17

Abb. 15 Meßwerte der Versuchstiere Nr. 18 und 21

Abb. 16 Meßwerte des Versuchstieres Nr. 22.

Bei den kurzen Überlebenszeiten der Versuchstiere Nr. 11, 12 und 15 schritten die Funktionsstörungen der Nieren nach dem 1. und 2. postoperativen Tag schnell voran, während sich die Funktion der Niere bei den Versuchstieren Nr. 18, 21 und 22 nach einer postoperativen Insuffizienz wieder erholte. Demgegenüber war die Funktion der Transplantate der Tiere Nr. 10, 16 und 17 bis kurz vor dem Tode ungestört. Eine Korrelation zwischen der Dauer der Ischaemie und der Funktion des Transplantates beobachteten wir - wie schon bezüglich der Überlebenszeit - nicht. Nach den vorliegenden Mitteilungen der Literatur beträgt die durchschnittliche Funktionszeit von Homoitransplantaten 3 bis 5 Tage, sofern keine immunsuppressive Behandlung stattfand (BROSIG und NAGEL). VALENSIECK und Mitarbeiter erreichten (1964) Überlebenszeiten bis zu 14 Tagen bei Unterkühlung des Transplantates unter 15° C.

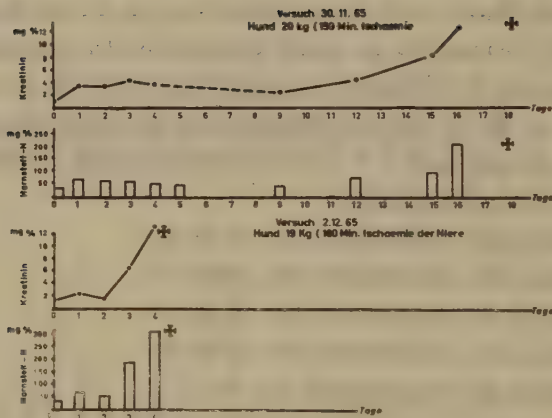


Abb. 12 Verhalten von Harnstoff und Kreatinin im Serum der Versuchstiere Nr. 10 und 11.

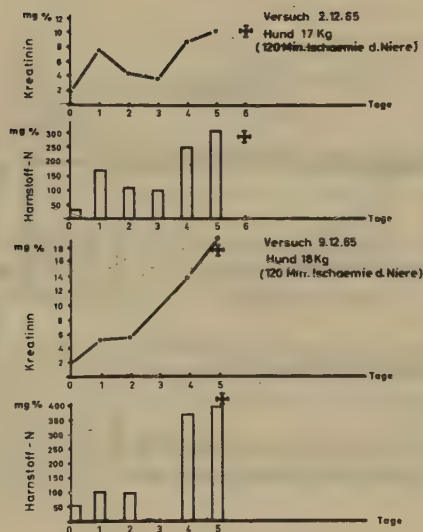


Abb. 13 Verhalten von Harnstoff und Kreatinin im Serum der Versuchstiere Nr. 12 und 15.

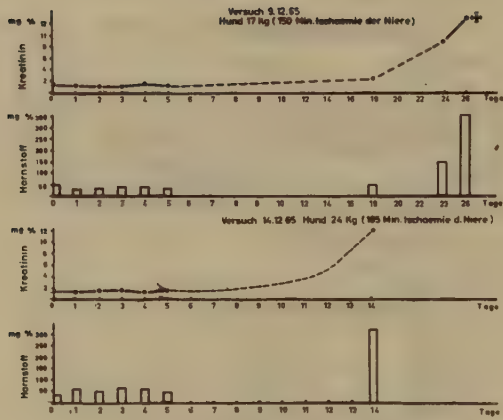


Abb. 14 Verhalten von Harnstoff und Kreatinin im Serum der Versuchstiere Nr. 16 und 17.

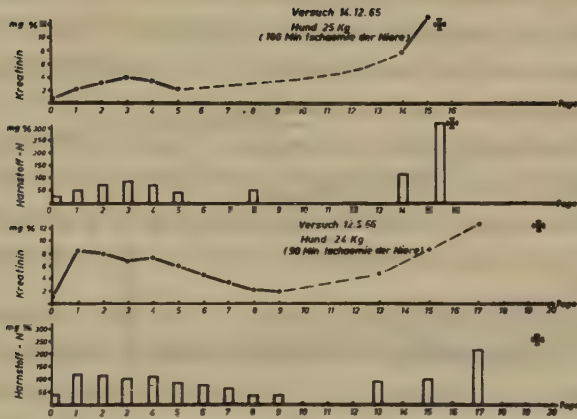


Abb. 15 Verhalten von Harnstoff und Kreatinin im Serum der Versuchstiere Nr. 18 und 21.

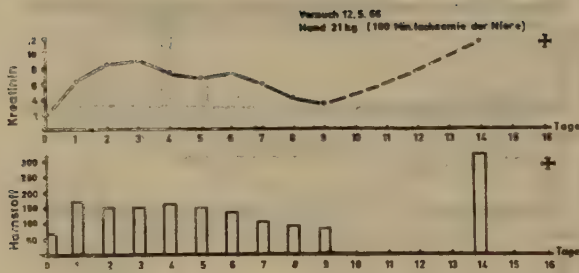


Abb. 16 Verhalten von Harnstoff und Kreatinin im Serum des Versuchstieres Nr. 22.

Die nachfolgende Tabelle veranschaulicht die durchschnittlichen und längsten Überlebenszeiten von Homotransplantaten verschiedener Arbeitsgruppen (Tabelle 13).

Die Funktionsstörungen der Transplantate nach relativ kurzen Ischaemienzeiten können aufgrund unserer Untersuchungen primär nicht durch Strukturschädigungen erklärt werden. Offenbar handelt es sich hier um eine mangelnde Energiebereitstellung infolge Zirkulationsstörungen im Nierentransplantat.

Wir legten unseren Versuchen die Arbeitshypothese zu Grunde, über eine Verbesserung der Energiebereitstellung in den Transplantaten den Beginn und das Ausmaß der Transplantatabstoßung zu beeinflussen. Über die Abhängigkeit der Antigen-Antikörperreaktionen vom Stoffwechsel der Transplantate sind uns keine Untersuchungsergebnisse bekannt. Theoretisch wäre es möglich, daß eine Membranschädigung der Zelle durch die Ischaemie oder durch postoperative lokale Ischaemiebezirke die immunologischen Reaktionen beeinflußt. Die Funktionszeiten unserer Transplantate sind zwar im Vergleich zu anderen Arbeitsgruppen relativ lang, sie lassen jedoch eine sichere positive Interpretation unserer Arbeitshypothese nicht zu.

In diesem Zusammenhang wäre noch ein anderer Wirkungseffekt des Persantins zu diskutieren. Die Ergebnisse der Untersuchungen von FERBER zeigen, daß das Persantin eine stabilisierende Wirkung auf die Lysosomenmembran, ähnlich der Cortisonwirkung, ausübt. Die Praemedikation unserer Versuchstiere scheint jedoch zur Erreichung dieses Effektes unzureichend zu sein.

Tabelle 13.

Durchschnittliche und längste Überlebenszeiten homologer Nierentransplantate ohne Immunosuppression.

Autoren	Durchschnittliche Überlebenszeiten der Transplantate.	Längste Überlebenszeiten der Transplantate.
AVRAMOVICI	33, 34 und 58 Tage	73 Tage
CARREL	4 bis 21 Tage	21 Tage
DE KLERK und Mitarb.	1 bis 20 Tage	20 Tage
DEMPSTER	4, 4 Tage	
HOLLOWAY	2 bis 4 Tage	4 Tage
HUME u. EGDAHL	5, 9 Tage	
IBUKA	1 bis 5 Tage	5 Tage
MURRAY und Mitarb.	12 bis 96 Stunden	96 Stunden
UNGER		17 Tage
VAHLENSIECK und Mitarb.		14 Tage
VILLARD und TAVERNIER		8 Tage
VOSS und Mitarb.	4 bis 26 Tage	26 Tage

VI. Bedeutung der Lokalisation der Transplantate

Zur Studie über die Bedeutung der Lokalisation des Transplantates für seine Funktion wurden 3 Versuchsgruppen gebildet:

Versuchsserie 1:

12 Hunde, ipsilaterale isotope Transplantation der Niere

Versuchsserie 2:

8 Hunde, ipsilaterale heterotope Transplantation der Niere
mit Anastomose der Nierengefäße mit Bauchorta
und V. cava inf.

Versuchsgruppe 3:

17 Hunde, Ipsilaterale heterotope Transplantation der Niere
in der fossa iliaca.

Das experimentelle Vorgehen veranschaulichen die Abbildungen 17 - 19. Auf eine Entfernung der kontralateralen Niere wurde bei dieser Versuchsanordnung verzichtet, einmal um die transplantierte Niere funktionell zu entlasten, zum anderen um das Schicksal des Transplantates über einen längeren Zeitraum verfolgen zu können. Die zur Transplantation entnommenen Niere wurde perfundiert. Die Durchblutung der Transplantate wurde angiographisch 8 bis 10 Tage nach der Operation überprüft.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt. In der 1. Versuchsserie ergab die Angiographie einen totalen Verschuß der Arterien der Transplantate. Da jedoch die kontralaterale Niere nicht entfernt wurde, überlebten einige der Versuchstiere. Bei der Relaparotomie eines Versuchstieres 1 1/2 Jahre nach der Transplantation stellten wir fest, daß das Transplantat völlig resorbiert worden war; lediglich Teile des Nierenbeckens und der Ureter waren noch nachweisbar.

Die Ergebnisse der 2. Versuchsgruppe waren mit Abstand die schlechtesten. Lediglich 1 Tier überlebte eine Zeitspanne von 8 Tagen und konnte angiographiert werden. Das Resultat war ein Verschuß der Arterie des Transplantates. Die kurzen

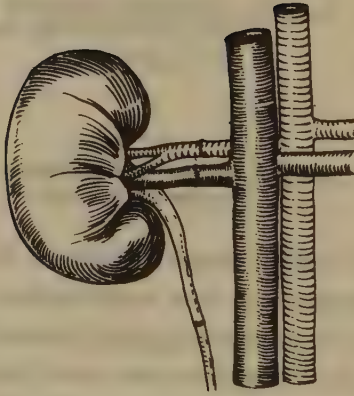


Abb. 17 Isotope Transplantation durch End- zu End- Anastomose
der Nierengefäße.

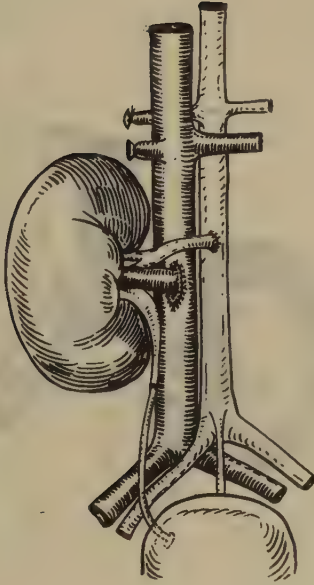


Abb. 18 Heterotope, ipsilaterale Transplantation durch End- zu Seit- Anastosen der Nierengefäße mit Aorta abdominalis und V. cava inferior.

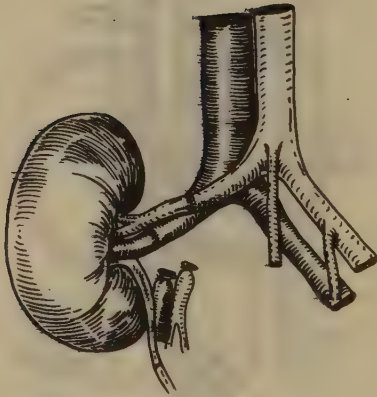


Abb. 19 Heterotope, ipsilaterale Transplantation in die Fossa iliaca.
End-zu-End-Anastomosen der A. et V. renalis mit den Iliacal-
gefäßen.

Tabelle 14. 37 Hunde.

Lokalisation des Transplantates	Zahl der Tiere	Dauer der Nieren- ischaemie in Min.	Durchführung der Angiographie am 8. bis 10. p.o. Tage Zahl der Tiere	Durchblutung der Transplantate am 8. bis 10. p.o. Tag Zahl der Transpl.
Gr. I				
Ipsilaterale isotope Transplantation in die fossa renalis	12	90 bis 140	5	0
Gr. II				
Ipsilaterale heterotope Transplantation im Abdomen	8	90 bis 180	1	0
Gr. III				
Ipsilaterale heterotope Transplantation in die fossa iliaca	17	95 bis 180	9	5

Überlebenszeiten waren durch gehäuft auftretende Komplikationen bedingt. Bei 2 Hunden kam es als Folge der Teilabklemmung der Aorta für die arterielle Anastomose zu Lähmungen der hinteren Extremitäten. Diese chirurgischen Komplikationen verringerten sich erheblich bei der 3. Versuchsserie. Die Zahl der überlebenden Tiere übertraf die der Versuchsgruppe 1 und 2. Bei 9 Versuchstieren waren wir in der Lage, zwischen dem 8. und 10. postoperativen Tag, eine arterielle Gefäßdarstellung durchzuführen. Bei 5 Transplantaten gelang es eine Durchblutung nachzuweisen.

Die Abb. 20 bis 25 zeigen angiographische Darstellungen dieser Versuchsgruppen. Wir konnten die Ergebnisse der Arbeitsgruppen STICH, KÜSS, MURRAY bestätigen, die als optimale Lokalisation des Transplantates die fossa iliaca empfahlen.

Aus energetischer Sicht ist es schwer vorstellbar, der Lokalisation des Transplantates eine Bedeutung für seine Funktion beizumessen. Lediglich über eine Störung der Hämodynamik des Transplantates könnte seine Funktion beeinflusst werden. Dafür sprechen unsere Befunde. Die Durchströmung der transplantierten Niere erscheint durch das Auftreten thrombotischer Gefäßverschlüsse mehr gefährdet zu sein bei isotoper und abdomineller Lokalisation des Transplantates, als bei der heterotopen Transplantation in die fossa iliaca. Die Frage nach der Ursache ist schwer zu beantworten. Es mag sein, daß bei der End-zu-End-Anastomose der Nierengefäße mit den Iliacal-Gefäßen die Geschwindigkeit des Durchflusses in den Nierengefäßen verbessert und die Gefahr des Auftretens von Strömungswirbeln an den Anastomosen vermindert wird. Auf diese Weise könnte eine lokale Thrombosierung zum Teil vermieden werden. Man kann auch eine Verbesserung des venösen Abflusses aus den Transplantaten in die fossa iliaca diskutieren, denn problematisch kann in der Regel nur die Durchführung der venösen Anastomose werden, weil durch sie die venöse Strombahn eingeengt wird. Es ist jedoch nicht unsere Absicht Hypothesen aufzustellen, die nur mit Hilfe von Durchströmungsmessungen der Transplantate geklärt werden könnten. Es lag uns lediglich daran unsere Ergebnisse darzustellen, die wir mit verhältnismäßig einfachen Untersuchungsmethoden erzielen konnten. Immunologisch bedingte Thrombenbildungen an den großen Gefäßen scheiden u.E. bei diesen kurzen p.o. Intervallen aus. Das weitere Schicksal der Transplantate bestimmen die humoralen und zellulären Antigen-Antikörper-Reaktionen. Dabei

können Spätthrombosierungen mit aseptischer Nekrose des Homotransplantates auf eine Histoinkompatibilität zurückgeführt werden.



Abb. 20 Die Aufnahme zeigt das normale Gefäßbild der fossa iliaca des Hundes. Die Bifurkation mit den Aa. iliacae com. und der A. sacralis med., die sich in 3 Äste aufteilt.



Abb. 21 Arterieller Verschluß nach isotooper Transplantation rechts am
8. Tag p.o. (Versuchsgruppe 1, Hund Nr. 4).

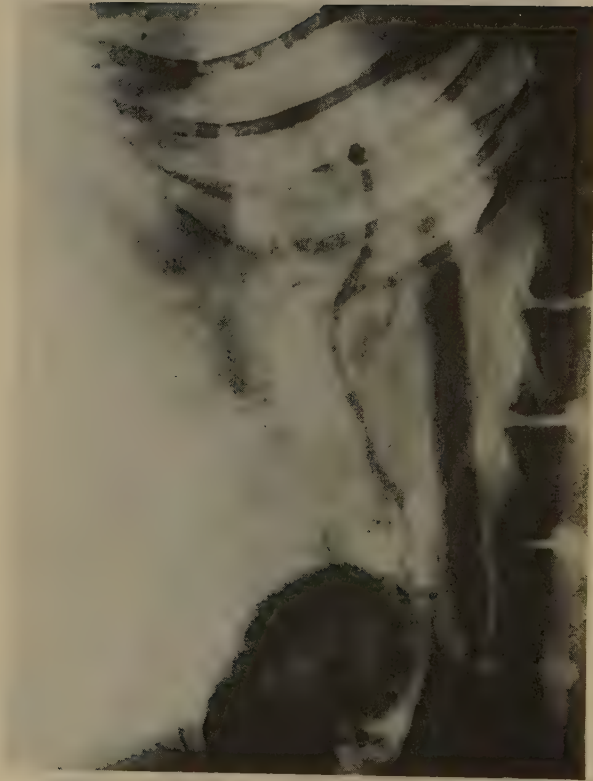


Abb. 22 Gut durchblutetes Transplantat einer heterotopen Transplantation in die fossa iliaca am 8. Tag p.o. (Hund Nr. 6, Versuchsgruppe 3).

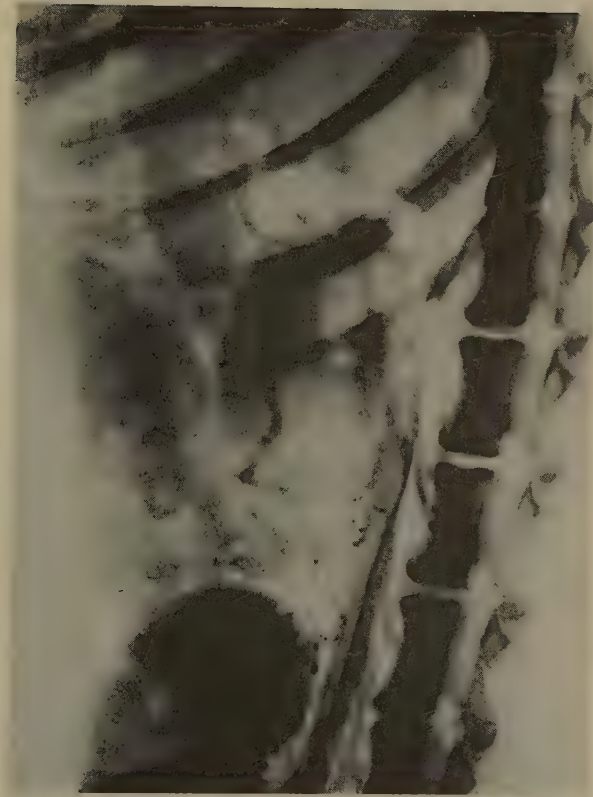


Abb. 23 Nierentransplantat nach heterotoper, ipsilateraler Transplantation
am 9. Tag p.o. (Hund Nr. 11, Versuchsgruppe 3).



Abb. 24 Nierentransplantat nach heterotoper, ipsilateraler Transplantation
in die fossa iliaca am 10. Tag p.o. (Hund Nr. 14, Versuchsgruppe 3).

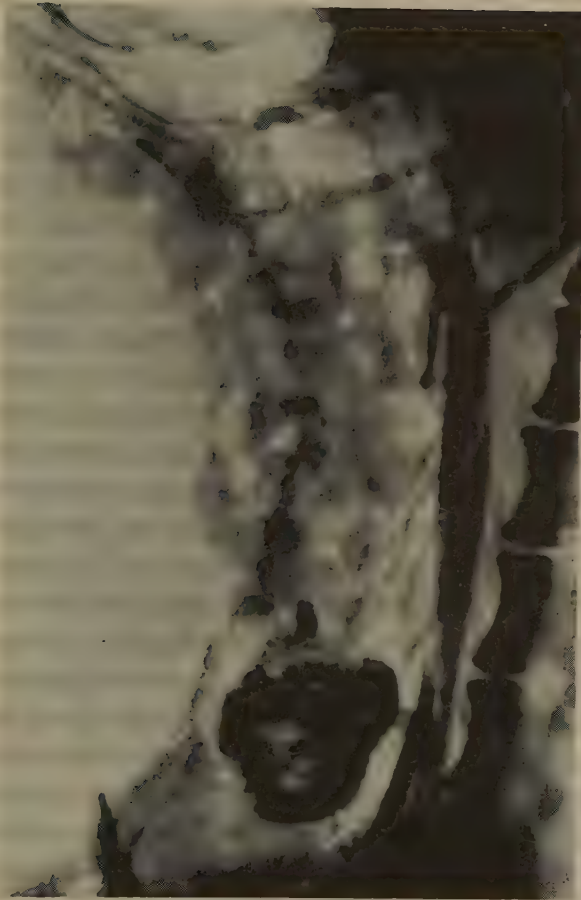


Abb. 25 Nierentransplantat nach heterotoper, ipsilateraler Transplantation in die fossa iliaca am 8. Tag p.o. Bei dem Transplantat wurde eine obere und untere Polresektion zur Bestimmung der biochemischen Substrate in der Nierenrinde durchgeführt. Der Defekt am oberen und unteren Nierenpol ist deutlich zu erkennen.

VIII. Folgerungen für die Nierentransplantation.

Unterzieht man die experimentellen Ergebnisse einer abschließenden Analyse, dann wird ersichtlich, daß in der Niere ebenso wie im Herzmuskel und im Gehirn der ATP-Gehalt der Adeninnukleotide überwiegt. Die reale ATP-Konzentration liegt jedoch deutlich unter der in der Myocardzelle, sie ist vergleichbar mit der des Gehirns. Unsere eigenen Versuchsergebnisse stimmen mit denen von GERLACH und Mitarb. sowie THORN und Mitarb. gut überein. Die Verschiebung des ATP-Gehaltes zu Gunsten des AMP ist methodisch bedingt. Der ATP-Pool verringert sich in der Hunde- und Menschenniere. Diese Verminderung der energiereichen Phosphorverbindung geht zunächst ebenfalls zu Lasten der Methodik, zumal der AMP-Gehalt gleichzeitig zunimmt. Die Fixation dieser labilen Phosphorverbindung verzögert sich durch die Größenzunahme der Niere beim Hund und besonders beim Menschen. Der Gesamtgehalt der Adeninnukleotide nimmt aber in der Menschen- und Hundeniere ab. Bei der Durchsicht der Literatur fanden wir keine Angaben über den realen Gehalt an Adeninnukleotide in der Rinde menschlicher Nieren. Die stationären Konzentrationen der säurelöslichen Phosphorverbindungen in der Rinde der Menschen- und Hundeniere erscheinen dagegen vergleichbar. Nennenswerte Gehalte an Phosphokreatin fanden wir weder in der menschlichen Niere noch in der Hundeniere, ebenso wenig wie GERLACH und Mitarb. sowie THORN und Mitarb. in der Ratten- und Kaninchenniere. Diskutiert man die Frage der Empfindlichkeit der Niere gegenüber einem Sauerstoffmangel, dann erscheint es uns unerlässlich den Funktionsstoffwechsel der Niere von ihrem Erhaltungsstoffwechsel zu trennen. Berücksichtigt man die Schwierigkeiten bei der Bestimmung der realen Metabolitkonzentration in der Nierenrinde unter den Bedingungen einer normalen Funktion, und die sofortige Verschiebung der Metabolite zu energieärmeren Verbindungen allein durch Alterationen des Organs, dann erscheint die Schlußfolgerung berechtigt, daß der Funktionsstoffwechsel der Niere gegenüber Sauerstoffmangel äußerst empfindlich reagiert, wesentlich schneller als der Stoffwechsel der Myocardzelle und rascher als der Gehirnstoffwechsel. Diese Störungsanfälligkeit des Funktionsstoffwechsels der Niere ist jedoch für die Wiederbelebenszeit des Organs von sekundärer Bedeutung.

HAMILTON, u. ROTTER beschrieben eine Erholungsfähigkeit der Niere nach einer

Kreislaufunterbrechung von mehreren Stunden.

Übereinstimmend mit GERLACH u. Mitarb. und THORN u. Mitarb. fanden wir nach dem Zusammenbruch der Nierenfunktion nur eine sehr langsam verlaufende anaerobe Glykolyse. Die Niere hat nur eine sehr geringe Stoffwechselaktivität, wenn ihre Funktion erlischt. Unterstellt man ein Junktim zwischen dem Energieverbrauch und dem Glykolyseablauf, dergestalt, daß der Energiebedarf die Geschwindigkeit der anaeroben Glykolyse bestimmt (ISSELHARD), dann ist der Energiebedarf der Niere äußerst gering. Sie wird dadurch gegenüber einem Sauerstoffentzug sehr unempfindlich. Die Interpretation der biochemischen Ergebnisse konnten wir morphologisch durch elektronenmikroskopische Untersuchungen stützen. Nach einer 2 Stunden dauernden Ischaemie fanden sich keine strukturellen Schäden, lediglich das Auftreten eines ischaemiebedingten Oedems konnten wir beobachten. Wesentlich empfindlicher reagiert dagegen der Strukturerhaltungstoffwechsel der Myocardzelle und des Gehirns. Ihr Energiebedarf liegt weit über dem der Nierenrinde. Aufgrund der Tatsache, daß die Niere auch einen längeren Sauerstoffentzug toleriert, wird sie für eine Transplantation, sieht man einmal von den immunologischen Problemen ab, sehr geeignet. Störungen der Nierenfunktion nach kurzen ischaemischen Intervallen können nicht durch strukturelle Schäden als Folge des Sauerstoffentzuges erklärt werden. Hier handelt es sich u.E. ausschließlich um Störungen der Energiebereitstellung, wahrscheinlich durch intrarenale Zirkulationsstörungen hervorgerufen. Bei länger sistierendem Kreislauf kann es zu Thrombosierungen in den Nierengefäßen kommen, die lokale ischaemische Bezirke nach der Wiederdurchblutung unterhalten. Man sollte deshalb anstreben die Niere nach der Entnahme möglichst schnell und ausreichend zu perfundieren, und zwar mit Perfusionsmedien die kein Blut enthalten. Nach einer isolierten Organperfusion mit Blut oder Blut enthaltenden Flüssigkeiten kann es durch den Zerfall der Erythrozyten zu erheblichen Gefäßspasmen kommen. Die Zeitspanne zwischen dem Kreislaufstillstand und dem Beginn der Organperfusion erscheint uns von größerer Bedeutung als die Dauer der Ischaemie der Transplantate zu werden.

Wegen der geringen Stoffwechselaktivität der ischaemischen Niere bringen u.E. Oberflächenunterkühlungen des Organs keine wesentlichen Vorteile. Auch durch eine sehr rasche Kühlung ist bei der Größe des Organs das hohe Energieniveau des Funk-

tionsstoffwechsels nicht zu fixieren. Eine Hypothermie der Niere erscheint uns nur dann wirkungsvoll, wenn die Abkühlung des Organs bis in die Nähe des Gefrierpunkts erfolgt. Wir glauben, daß die Niere in Normothermie einen totalen Sauerstoffentzug mindestens über 2 Stunden toleriert, ohne dass daraus eine bleibende Funktionsstörung resultiert.

Es war uns in der Myocardzelle gelungen nach einer pharmakologischen Vorbehandlung der Versuchstiere über eine Verbesserung der Energiebereitstellung die Ischaemietoleranzzeit zu verlängern.

Es schien uns von Interesse zu untersuchen, ob durch dieselbe Vorbehandlung auch in der Nierenrinde die Energiebereitstellung zu verbessern war. Es gelang in der Tat auch in der Nierenrinde den ATP-Gehalt während einer Ischaemiedauer von 40 Minuten signifikant zu erhöhen. Nun verliert eine Verbesserung der Energiebereitstellung in der Niere an Bedeutung, wenn man sich entschließt als Transplantate Leichennieren zu verwenden. Eine medikamentöse Vorbehandlung kann daher nur bei Lebendspendern von Bedeutung sein. Eine auf pharmakologischem Wege erzielte Verbesserung der Energiebereitstellung in der Nierenrinde könnte dagegen einen günstigen Einfluß auf die Niereninsuffizienz ausüben, sofern diese nicht zirkulatorisch bedingt ist.

Wir haben die Praemedikation bei allen Versuchstieren durchgeführt, bei denen anschließend eine homoologe Nierentransplantation erfolgte. Es ging uns dabei um die Beantwortung der Frage inwieweit der Stoffwechsel der Transplantate die Immunreaktionen beeinflusst. Im allgemeinen wird von den Immunbiologen und Genetikern (HASEK) ein Einfluß des Stoffwechsels auf die Transplantatimmunität abgelehnt. Wir können nur anhand der Überlebenszeiten unserer Versuchstiere diese Frage zur Diskussion stellen. In der Literatur werden Überlebenszeiten über einen Zeitraum von 14 Tagen nur sehr selten beschrieben. Immerhin überlebten von unserem Versuchskollektiv (22 Hunde) 6 14 bis 26 Tage. Vielleicht erscheint deshalb die Schlußfolgerung berechtigt, daß ein primär gut funktionierendes Transplantat die besseren Voraussetzungen zur Überwindung der immunbiologischen Barrieren in sich birgt.

Als beste Lokalisation des Transplantates wird heute die Transplantation in die

Fossa iliaca bezeichnet. Es fällt schwer sich vorzustellen, daß der Ort der Transplantation einen Einfluß auf die Funktion des Transplantates ausüben sollte. Wir sind diesen Problemen nachgegangen. Dabei zeigte sich, daß die besten Ergebnisse in der Tat mit der heterotopen Transplantation in die Fossa iliaca zu erzielen waren. Eine Durchblutung der Transplantate an einem anderen Transplantationsort war nach 8 Tagen nicht mehr nachzuweisen. Wegen der guten haemodynamischen Voraussetzungen scheint die Fossa iliaca als optimaler Transplantationsort praedestiniert.

IX. Zusammenfassung.

Nach einer Diskussion über den Stoffwechsel der Niere und ihre endergonisch ablaufenden Reaktionen werden zunächst die stationären Konzentrationen von energiereichen P-Verbindungen in der Nierenrinde bestimmt und mit den in der Literatur vorliegenden Werten verglichen. Den überwiegenden Anteil der frei verfügbaren Energie stellt auch in der Nierenrinde das ATP zur Verfügung. Die stationären Konzentrationen der Adeninnucleotide der Kaninchenniere wurden denen der Hunde- und Menschenniere gegenübergestellt. Der Gesamtgehalt der energiereichen Phosphorverbindungen in Hunde- und Menschenniere lagen noch unter der Konzentration in der Nierenrinde des Kanins. Dagegen gleichen sich Hunde- und Menschenniere hinsichtlich der untersuchten Metabolitkonzentrationen.

Das Verhalten der Metabolitkonzentrationen in der Nierenrinde nach Sauerstoffentzug ist charakteristisch. Da die Nierenrinde über keine nennenswerte Kohlenhydratvorräte verfügt und ihr kaum Phosphokreatin als Puffer gegenüber einer Sauerstoffschuld zur Verfügung steht, kommt es unmittelbar nach Unterbrechung der Blutzufuhr zu einem rapiden Verlust an ATP und zu einem raschen Anstieg des Monophosphats. Diese erheblichen Veränderungen vollziehen sich in den ersten Minuten. Nach Einstellung des Funktionsstoffwechsels schreiten die weiteren Veränderungen wesentlich langsamer voran. Der Energieverbrauch zur Erhaltung der Struktur ist bei der Niere gering, die glykolytische Aktivität ist weit weniger intensiv als beispielsweise in der Myocardzelle und im Gehirn. Die Niere wird nach Einstellung ihrer Funktion gegenüber einem Sauerstoffmangel sehr unempfindlich. Ein günstiger Faktor zur Wiederaufnahme der Funktion scheint eine Hemmung der Dephosphorylierung der Adeninnucleotide beim AMP zu sein. Die AMP-Konzentration wird für die Wiederbelebung der Niere entscheidend, zumal die weiteren Abbauprodukte der Nucleotide der Niere verloren gehen und quantitativ ins Blut übertreten. Die Niere ist bei der Resynthese der Adeninnucleotide nach Wiederfreigabe des Kreislaufs zunächst nur auf ihre Monophosphate angewiesen.

Die Unempfindlichkeit der Nierenrinde gegenüber Sauerstoffentzug wird durch die elektronenmikroskopischen Befunde untermauert. Die ischaemiebedingten strukturellen Veränderungen sind auch nach 2 Stunden sehr gering. Lediglich das Auftreten eines Ödems ist nachweisbar, im Gegensatz zu den erheblichen Verände-

rungen am Papillarmuskel des Kaninchenherzens nach einer 15 Minuten dauernden Asphyxie.

In weiteren Versuchen wurden die Metabolite in der Nierenrinde des Hundes vor, während und nach der homologen Transplantation untersucht. Die Veränderungen der Adeninnucleotide nach Unterbrechung der Blutzufuhr verlaufen in der Hundeniene ebenso charakteristisch wie in der Kaninchenniere. Der Nucleotid-Abbau erfolgt auch in der Hundeniene zunächst bis zum AMP. Die Resynthese der energiereichen Phosphate ist nach einer Ischaemiedauer von 100 Minuten bereits 15 Minuten nach Anschluß an den Kreislauf nachweisbar.

Durch Praemedikation eines Teils der Versuchstiere mit anorganischem Jod und Persantin gelingt es, das Energie-Niveau in der Nierenrinde während der Ischaemie, gemessen am ATP, anzuheben. Der ATP-Gehalt liegt nach einer Ischaemiedauer von 40 Minuten signifikant über dem der unvorbehandelten Kontrollgruppe. Die Stoffwechselwirkung der benutzten Pharmaka auf die Niere unterscheidet sich nicht von der auf Myocardzelle oder Gehirn.

Im letzten Teil der vorliegenden Arbeit wird über homologe Nierentransplantationen ohne Immunsuppression an Hunden berichtet. Sämtliche Versuche wurden in Normothermie nach Praemedikation der Tiere mit anorganischem Jod (Endojodin^R) und Dipyridamol (Persantin^R) durchgeführt. Die pharmakologische Vorbehandlung diente der Verbesserung der Energiebereitstellung im Transplantat.

Bei Entfernung der kontralateralen Niere (22 Hunde) gewährleistete die transplantierte Niere bei 14 Hunden ein Überleben zwischen 4 und 26 Tagen. Die Funktion der Transplantate wurde durch Bestimmung des Harnstoff- und Kreatininspiegels im Serum bestimmt. Eine strenge Korrelation zwischen Ischaemiezeit und Funktion der transplantierten Nieren konnten wir nicht nachweisen.

Die letzte Versuchsreihe wurde in drei Versuchsgruppen eingeteilt (37 Hunde). Die günstigsten Ergebnisse bezüglich der postoperativen Durchblutung des Transplantates zeitigte die ipsilaterale, heterotope Verpflanzung der Niere in die fossa iliaca mit End-zu-End Anastomosen der Gefäße und der Harnleiter.

X. Literaturverzeichnis

- AVRAMOVICI, A.: Les transplantations du rein,
Lyon. Chir. 21, 734 (1924)
- BERGMEIER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse
Verlag Chemie, Weinheim (1962)
- BERNSHEIMER, A. und RUDOLPH, W.: Neue Ergebnisse über Durchblutung
und Substratversorgung des menschlichen Herzens.
Münch. med. Wschr. 104, 46 (1962)
- BRENDEL, W.: Kreislauf in Hypothermie
Verh. Dtsch. Ges. f. Kreislaufforschung 23, 33 (1957)
- BRETSCHNEIDER, H.J.: Vergleichende Untersuchungen von Coronarer- und
Nierendurchblutung unter der Wirkung von Sympathomimetika,
Sympatholytica und Adenosin-Körpern.
Kreislaufmessungen: 4. Freiburger Colloquium 1963
Banaschewski, München-Gräfolding 104 (1964)
- BRETSCHNEIDER, H.J.: Neue Pharmaka zur Behandlung der Coronarinsuffizienz.
Dtsch. med. Wschr. 86, 1649 (1961)
- BRETSCHNEIDER, H.J.: Pharmakotherapie coronarer Durchblutungsstörungen
mit kreislaufwirksamen Substanzen.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 69, 583 (1963)
- BRETSCHNEIDER, H.J., EBERLEIN, H.J., KABUS, H.M., NELLE, G. und
REICHMANN: Die Wirkungen von 3-(8-Diäthylaminoäthyl)-4-methyl-7-
carbäthoxy-methox-2-Oxo- (1,2-chromen), einer selektiv
coronarerweiternden Substanz auf Kreislauf, Atmung und
Stoffwechsel.
Arzneim. Forsch. 13, 255 (1963)
- BRETSCHNEIDER, H.J., FRANK, A., KRANZOW, E. und V. BERNARD:
Über den kritischen Wert und die physiologische Abhängigkeit
der Sauerstoff-Sättigung des venösen Coronarblutes.
Pflüger-Arch. ges. Physiol. 264, 399 (1957)
- BROSIG, W. und R. NAGEL: Nierentransplantation.
Verlag Walter de Gruyter u. Co., Berlin (1965)
- CARREL, A.: La technique opératoire des anastomoses vasculaire et la
transplantation des viscères.
Lyon med. 98, 859 (1902)
- CARREL, A.: Transplantation of the Kidney with implantation of the renal
vessels in the aorta and vena cava.
Science, 25, 740 (1908)

- CARREL, A.: Résultat éloigné d'une double néphrektomie avec replantation d'un rein.
C.R. Soc. Biol. (Paris) 66, 419 (1909).
- CARREL, A. and C.C. GUTHRIE: Transplantation of blood vessels and organs.
Brit. med. J., 2, 1796 (1906).
- CALNE, R.Y., PEGG, D.E., PRYSE-DAVIES, J. and F.L. BROWN:
Renal preservation by ice-cooling. An experimental study relating to kidney transplantation from cadavers.
Brit. med. J. II, 651 (1963)
- MASCITELLI-CARIANDIOLI, E. u. C. CITHERIO: Gewebsuntersuchungen von Adenosinnukleotiden bei experimenteller Nephrose.
Klin. Wochr. 37, 1146 (1959)
- DECASTELLO, A.: Über experimentelle Nierentransplantation.
Wien, Klin. Wochr. 15, 317 (1902)
- DE KLERK, J.N., SCOTT, H.W. and W.W. SCOTT: Renal homotransplantation.
Ann. Surg. 140, 711 (1954)
- DEMPSTER, W.J. and A.M. JOEKES: Diuresis and antidiuresis in Kidneys autotransplanted to the neck of dogs.
Quart. J. Exper. Physiol. 38, 11 (1953)
- DEMPSTER, W.J. and A.M. JOEKES: Functionell studies of the Kidney autotransplanted to the neck of dogs.
Acta med. Scand. 147, 99 (1953)
- DEMPSTER, W.J., JOEKES, A.M. and N. OECONOMOS: The function of Kidneys autotransplanted to the iliac vessels.
Ann. Coll. Surg. England 16, 324 (1955)
- DEUTICKE, B. und E. GERLACH: Zum Verhalten der Nukleotide und ihrer dephosphorylierten Abbauprodukte in der Niere während und nach der Ischaemie.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 278, 54 (1963)
- DEUTICKE, B., DUHM, J. und E. GERLACH: Beeinflussung der Monosaccharid-Permeabilität des Menschen-Erythrocyten durch eine Pyrimido-Pyrimidinverbindung.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 280, 275 (1964)
- EKESTRÖM, S., PALEUS, S. und T. ABERG: Biochemische und physiologische Studien an anoxischen Hundeherzen mit extrakorporaler Zirkulation mit und ohne Zufuhr von Persantin.
Cordiologia 46, 281 (1965)

- EMMONS, P.R., HARRISON, M.J.G., HONOUR, A.J. and J.R.A. MITCHELL:
Effect of Dipyridamole on Human Platelet Behaviour.
Lancet II. (1965) 603 Nr. 7413
- ERBSLÖH, F., BERNSMEIER, A. und H.R. HILLERSHEIM:
Der Glukoseverbrauch des Gehirns und seine Abhängigkeit
von der Leber.
Arch. f. Psychiatr. u. Z.Neur. 196, 611 (1958)
- ERBSLÖH, F., KLÄRNER, F. und A. BERNSMEIER:
Über die Bilanz des cerebralen Zuckerstoffwechsels.
Klin. Wschr. 36, 849 (1958)
- V.EULER, C. and B.J. HOLMGREN: Thyroxine "rezeptor" of the thyroid-
pituitary system.
J. Physiol. (Brit.), 131, 125 (1956)
- V.EULER, C. and B.J. HOLMGREN: The role of Hypothalamo-Hypophysial
Connexions in the thyroid secretion.
J. Physiol. (Brit.) 131, 137 (1956)
- FERBER, E., P.G. MUNDER u. H. FISCHER: Wirkung von Dipyridamol und
von Prednisolon auf die Lysophospholipase von Erythrocyten.
Biochem. Z. 344, 218 (1966)
- FLECKENSTEIN, A.: Physiologie und Pathophysiologie des Herzstoffwechsels im
Zusammenspiel mit bioelektrischen und mechanischen Funda-
mentalprozessen.
in W.BARGMANN und W.DOERR
"Das Herz des Menschen"
Bd. 1, 355, Thieme-Verlag, Stuttgart (1963)
- FLECKENSTEIN, A., J. JANKE und E. GERLACH: Über den tatsächlichen Gehalt
des Rattenherzens an Adeninnukleotiden.
Arch. expr. Path. u. Pharm. 235, 243 (1959)
- FLECKENSTEIN, A., JANKE, J. und E. GERLACH: Konzentration und Turnover
der energiereichen Phosphate des Herzens nach Studien mit
Papierchromatographie und Radiophosphor.
Klin. Wschr. 37, 451 (1959)
- FLECKENSTEIN, A.: Der Kalium-Natrium-Austausch als Energieprinzip in
Muskel und Nerv.
Berlin, Göttingen, Heidelberg, Springer 1955.
- FLECKENSTEIN, A.: Der Herzmuskelstoffwechsel und seine Abhängigkeit von der
Coronardurchblutung.
Wien, Z. inn. Med. 39,69 (1958)

- FRIMMER, M., HEGNER, D. und W. WINKELMANN: Die Wirkung von 2,6 - bis (diaethanolamino) - 4,8 - dipiperidino - pyrimido - (5,4 - d) pyrimidin (Persantin) auf die Atmung von Mitochondrien bei niederen O₂-Drucken.
Klin. Wschr. 41, 715 (1963)
- FRIMMER, M. und D. HEGNER: Beeinflussung der Kohlenmonoxydvergiftung der Maus durch 2,6 - bis (diaethanolamino) - 4,8 - dipiperidino - pyrimido - (5,4 - d) pyrimidin (Persantin).
Klin. Wschr. 41, 1165 (1963)
- GERLACH, E. und B. DEUTICKE: Bildung und Bedeutung von Adenosin in dem durch Sauerstoffmangel geschädigten Herzmuskel unter dem Einfluß von 2,6-bis (diaethanolamino) - 4,8 - dipiperidiono-pyrimido - (5,4-d) pyrimidin.
Arzneim.-Forsch. 13,48 (1963)
- GERLACH, E., DÖRING, H.J. und A. FLECKENSTEIN: Papierchromatographische Studien über die Adenin- und Guanin-Nucleotide sowie anderer säurelöslicher Phosphorverbindungen des Gehirns bei Narkose, Ischaemie und in Abhängigkeit von der Technik der Gewebsentnahme.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 266, 266 (1958)
- GERLACH, E., DREISBACH, R.H. und B. DEUTICKE: Entstehung von Nucleosiden, Purinen und Pyrimidinen in der Rattenniere bei Sauerstoffmangel.
Naturwiss. 49, 87 (1962)
- GERLACH, E., BADER, W. und W. SCHWOERER: Über den Stoffwechsel säurelöslicher Phosphorverbindungen in der Rattenniere. Stationäre Konzentrationen in Gesamtniere und Nierenrinde sowie ihre Veränderungen durch Gewebsentnahme, Ischaemie und Asphyxie.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 272, 407 (1961)
- GERLACH, E., DEUTICKE, B. und R.H. DREISBACH: Zum Verhalten von Nukleotiden und ihrer dephosphorylierten Abbauprodukte in der Niere bei Ischaemie und kurzzeitiger postischaemischer Wiederdurchblutung.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 278, 298 (1963)
- GOLLWITZER-MEIER, K.: Zur Frage einer Sauerstoffschuld des Warmblüterherzens.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 242, 691 (1939)
- GOTTSTEIN, U., BERNSMEIER, A. und J. SEDLMEYER: Der Kohlehydratstoffwechsel des menschlichen Gehirns.
Klin. Wschr. 41, 943 (1963)
- GREER, M.A.: The role of Hypothalamus in the control of thyroid function.
J. clin. Endocrin. 12, 1259 (1952)

- GREER, M.A. and H.F. SHULL: A quantitative study of the effect of thyreotropin upon the thyroïdal secretion rate in euthyroid and thyrotoxic subjekts.
J. clin. Endocrin. 17, 1030 (1957)
- HAMILTON, P.B., PHILLIPS, R.A. and A. HILLER: Duration of renal ischemia required to produce uremia.
Amer. J. Physiol. 152, 517 (1948)
- HASEK, M.: Quantitative aspekts of immunological tolerance.
Fol. biol. (Praha) 8, 73 (1962)
- HOCHREIN, H. und H.J. DÖRING: Die energiereichen Phosphate des Myocards bei Variationen der Belastungsbedingungen.
Versuche am Herz-Lungen-Präparat des Meerschweinchens.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 271, 548 (1960)
- HOCKERTS, Th. u. G. BÖGELMANN: Untersuchungen über die Wirkungen von 2,6- bis (diaethanolamino) - 4,8 - dipiperidino - pyrimido - (5,4 -d) pyrimidin auf Herz und Kreislauf.
Arzneim.-Forsch. 9, 47 (1959)
- HOFFMANN, P.C., KUNZ, H.W., SCHMID, W. und SIESS, M.:
The Determination of the level and Redox-Quotient of ubiquinone (Coenzyme Q₁₀) in Guinea Pig Heart in vivo.
Biochem. Z. 339, 548 (1964)
- HOLLOWAY, J.K.: The effekt of diureties on transplanted Kidney.
J. Urol. 15, 111 (1926)
- HÖLSCHER, B.: Untersuchungen zur Verlängerung der Überlebenszeit des isolierten Kaninchenherzens nach Vorbehandlung mit 2,6 - bis (diaethanolamino) - 4,8 - dipiperidino - pyrimido - (5,4 -d) pyrimidin.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 308, 886 (1964)
- HÖLSCHER, B. und TH. GÜNTHER: Das Verhalten von Phosphokreatin, Adenin-nukleotiden, Orthophosphat, Glykogen und Milchsäure im Herzmuskel bei verschiedenen Formen des Herzstillstandes.
Thoraxchirurgie: 9, 421 (1961)
- HOHORST, H.J., KREUTZ, F.H. und TH. BÜCHER: Über Metabolitgehalte und Metabolitkonzentrationen in der Leber der Ratte.
Biochem. Z. 332, 18 (1959)
- HUME, D. and R.H. EGDAHL: Kidney Transplantation.
Transplant. Bull. 2, 54 (1955)
- ISSELHARD, W., MERGUET, H. und K. PALM: Bestimmung des Gesamtglykogens neben säurelöslichen Metaboliten in Perchorsäure-Organhomogenaten.
Zeitschr. Ges. exper. Med. 136, 174 (1962)

- ISSELHARD, W., IRMSCHER, K. und W. THORN: Die Relation von anorganischem Phosphat. Phosphokreatin, freiem und Gesamtkreatin in Warmblüterorganen bei verschiedener Belastung.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 268, 415 (1959)
- ISSELHARD, W. und H. MERGUET: Metabolite des Glykolyse-Cyclus und Adenylsäure- Phosphokreatin-Systems in schlagenden und durchbluteten Warmblüterherzen unter verschiedenen Versuchsbedingungen.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 276, 211 (1962)
- ISSELHARD, W., POHL, W., BERGHOF, W.J., SCHMERBAUCH, D. und H.W. SCHÜLER: Versuche zur Verbesserung der Energiebereitstellung im künstlich stillgelegten Herzen und in der Erholung bei Reperfusion.
Verh. Dtsch.Ges. Kreislaufforsch. 30, 216 (1964)
- IBUKA, K.: Function of the homogenous Kidney transplant.
Amer. J. Med.Sc. 171, 420 (1926)
- IBUKA, K.: Function of the autogenous Kidney transplant.
Amer. J. Med.Sc. 171, 407 (1926)
- IMANOTO, F., IWASA, K. und K. OKUNUKI:
Enzymatic determination of adenosintriphosphate using yeast hexokinase.
J. Biochem. (Tokyo), 45, 65 (1958)
- KUNZ, W., SCHMID, W. und M. SIESS: Die Bestimmung von Adeninnukleotiden und Hexosesphosphateestern in Gewebsextrakten.
Z. Ges. exper. Med. 130, 328 (1958)
- KUNZ, W., SCHMID, W. und M. SIESS: Untersuchungen zur Wirkung von 2,6 - bis (diaethanolamino) - 4,8 - dipiperidino - pyrimido - (5,4 -d) pyrimidin auf den Herzstoffwechsel.
Arzneim. Forsch. 12, 1098 (1962)
- KUSCHINSKY, G.: Über die Bedingungen der Sekretion des thyreotropen Hormons der Hypophyse.
Arch. exper.Path. und Pharmak. 170, 510 (1933)
- KÜSS, R., TEINTURIER, J. et P. MILLIEZ: Quelques essais de greffe de rein chez l'homme.
Mém. Acad. Chir. 77, 755 (1951)
- LAUDAHN, G.: Die Wirkung von Persantin auf Herzmuskel-Sarkosomen.
Experientia 17, 415 (1961)
- LAMPRECHT, W., MICHAL, G. und S. NÄGELE: Der Stoffwechsel des hypoxischen und anoxischen Herzmuskels.
Klin.Wochr. 39, 358 (1961)

- LARGIADER, F.: Organtransplantationen.
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1966
- LEFEBVRE, L.: Transplantation prolongée de reins au cou chez la chien.
Arch. intern. physiol. 56, 259 (1949)
- LEFEBVRE, L.: Transplantation prolongée de reins au cou chez la chien.
Comt. rend. Soc. biol. 140, 1117 (1946)
- LOHMANN, K.: Über das Vorkommen und den Umsatz von Pyrophosphat
in Zellen.
Biochem. Z., 202, 466 (1928)
- LOESER, A.: Die Umstimmung der Schilddrüsentätigkeit durch Jod.
Klin. Wochschr. 13, 533 (1934)
- MEDAWAR, P.B.: The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts
in rabbits.
J. Anat. London, 78, 176 (1944)
- MEDAWAR, P.B.: A second study of the behaviour and fate of skin homografts
in rabbit.
J. Anat. London, 79, 157 (1945)
- MEDAWAR, P.B.: Immunity to homologous grafted skin. The suppression of
cell division in grafts transplanted to immunized animals.
Brit. J. Exper. Path. 27, 9 (1946)
- MERGUET, H., ISSELHARD, W. und B. LÖHR: Stoffwechseleränderungen im
menschlichen Herzen bei künstlichem Herzstillstand.
Thoraxchirurgie 11, 351 (1964)
- MÖLBERT, E.: Die Herzmuskelzelle nach acuter Oxydationshemmung im
elektronenmikroskopischen Bild.
Beitr. path. Anat. 118, 422 (1958)
- MÖLBERT, E.: Submicroscopic Enzyme localisation in cardiac muscle.
Rev. Can. Biol. 22, 173 (1963)
- MOORE, D.H. and H. RUSKA: The structure of capillaries and small arteries.
J. biophys.biochem. Cytol. 3, 457 (1957)
- MURRAY, G. and R. HOLDEN: Transplantation of Kidneys, experimentally and
in human cases.
Amer. J. Surg. 87, 508 (1954)
- MURRAY, J.E., FAVOUR, C.B., WEMYSS, C.T. and B.F. MILLER:
A preliminary study of renal homotransplants in dogs.
Plast. reconstr. Surg. 11, 353 (1953)

- MURRAY, J.E., LANG, S. and B.F. MILLER: Funktional status of nügle autotransplanted Kidneys in the dog.
Fed. Proc. 13, 268 (1954)
- MURRAY, J.E. and S. LANG: Prolonged functional survival of renal autotransplants in the dog.
Surg. Gynec. Obstet. 103, 15 (1956)
- NAGANO, M. und H. HOCHREIN: Enzymatische Störungen im Myocard bei Belastung und Insuffizienz des Herzens.
Klin. Wschr. 41, 792 (1963)
- PERSKY, L. and S. JACOBS: Effekt of ACTH and Cortisone on homologous Kidney transplants.
Proc. Soc. Expr. Biol. Med. N.Y. 77, 66 (1951)
- LOUDOT, Zt. u. W. BROSIG und R. NAGEL:
Nierentransplantation S. 8.
- ROTTER, W.: Über die postischaemische Insuffizienz überlebender Zellen und Organe, ihre Erholungszeit und die Wiederbelebenszeit nach Kreislaufunterbrechung.
Thoraxchirurgie 6, 107 (1958)
- RUDOLPH, W., BERNSMEIER, A., HENSELMANN, L., BAEDEKER, W.D. und H. HOFMANN: Die Wirkung von 2,6 - bis (diaethanolamino) - 4,8 - dipiperidino - pyrimido (5,4-d) pyrimidin (Persantin) auf die Coronardurchblutung, die Sauerstoffextraktion und die Substratextraktion des menschlichen Herzens.
Klin. Wschr. 42, 667 (1964)
- SCHARF, J.H.: Experimentelle Voraussetzungen und theoretische Grundlagen zu einer antithyreoidalen Therapie unter Vermeidung zusätzlicher strumigener Effekte.
Nova acta Leopoldina N.F. 26: Nr. 163, 1 (1963)
- SCHARF, J.H., EHRENBRAND, F., HAUMANN, W. und R. VOSS: Regressive Morphokinese in menschlichen Basedowstrumen.
Verh. anat. Ges. 55, 339 (1959)
- SCHARF, J.H., FÖRSTER, W. und E. MUSCHOLL: Über die getrennte Abhängigkeit des Stoffwechselverhaltens und der Schilddrüsenhyperplasie von den β und γ -Zellen der Adenohypophyse bei der Ratte nach gemeinsamer Verabreichung von Thyreostatica und SH-gruppenhaltigen Substanzen.
Naturwiss. 41, 146 (1954)
- SCHARF, J.H., SCHMIDT, S., KAMINSKI, K. und D. MARZOTKO: Vergleiche zwischen der Wirkung von Thyroxin, Trijodthyronin sowie Dijodtyroxin mit und ohne Methylthiouracilzugabe auf Gasstoffwechsel und Körpergewicht bei der weißen Ratte.
Endokrinologie 46, 22 (1964)

- SCHARF, J.H., MARZOTKO, D., SCHMIDT, R., GROH, P. und TH. WIECHMANN:
Neue Befunde über die Abhängigkeit des O₂-Stoffwechsels bei
weißen Ratten von Temperatur, Luftfeuchte und Luftdruck sowie
vom Serum-Jod-Quotienten.
Endokrinologie, 48, 201 (1965)
- SCHNEIDER, M.: Die Wiederbelebenszeit verschiedener Organe nach Ischaemie.
Langenbecks Arch. Klin.Chir. 308, 252 (1964)
- SCHOEN, H.R., VOSS, R., BETTGE, S. und W.H. BECKER:
Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Asphyxie
auf das Verhalten der energetischen Phosphate in Herzmuskel
und Gehirn.
Langenbecks Arch. Klin.Chir. 301, 660 (1962)
- SCHÖNBACH, G., BETTGE, S. und VOSS, R.: Die lokale Herzkammerkühlung und
ihr Einfluß auf die Funktion und den Glykogengehalt des
Herzmuskels.
Thoraxchirurgie 8, 365 (1961)
- SCHMIDT-MENDE, M.: Der Energiestoffwechsel der kältekonserverten Niere.
Langenbecks Arch. Klin.Chir. 316 894 (1966)
- SCHWARZ, O.F., GABRIEL, O. und O. HOFFMANN-OSTENHOF:
Die Konzentration phosphorylierter Produkte des Intermediär-
stoffwechsels in verschiedenen Organen des gesunden Meer-
schweinchens.
Mh. Chem. (Wien) 84, 779 (1953)
- SIESS, M.: Untersuchungen zur Beeinflussung des Energiestoffwechsels
am erschöpften Herzvorhofpräparat.
Verh. Dtsch. Kreislaufforsch. 27, 259 (1961)
- SIESS, M.: Funktion und Energiestoffwechsel des erschöpften Herzmuskels
unter der Wirkung von 2,6 - bis (diaethanolamino) - 4,8 -
dipiperidino-pyrimido - (5,4-d) pyrimidin.
Arzneim.-Forsch. 12, 683 (1962)'
- STARZL, T.E., MARCHIORO, T.I., PICKINSON, T.C., RIFKIND, D.,
STONINGTON, O.G. and W.R. WADDELL: Technique of renal Homotransplantation:
experience with 42 cases.
Arch. Surg. 89, 87 (1964)
- STICH, R.: Zur Transplantation von Organen mittels Gefäßnaht.
Arch. Klin. Chir. 83, 404 (1907)
- STICH, R.: Über biologische Veränderungen nach Gefäß- und Organ-
transplantationen.
Zbl. Chir. 35, 1366 (1908)

- STAUDINGER, H. J. und I. HAENEL-IMMENDÖRFER: Der Kohlehydrathaushalt unter dem Einfluß von Kälte.
Beitr. path. Anat. 109, 409 (1947)
- THAUER, R.: Kreislauf und Narkose.
Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforschg. 23,3 (1957)
- THAUER, R. und W. BRENDDEL: Hypothermie.
Prog. Surg. 2, 73 (1962). Basel - New York.
- THORN, W.: Dynamik des Zellgeschehens und Ursachen für den Gewebsuntergang im Sauerstoffmangel.
Hochmolekulare Strukturen, Energiefreisetzung und Funktion der Zelle.
Dtsch. med. Wschr. 85, 74 (1960)
- THORN, W.: Metabolitkonzentrationen im Herzmuskel unter normalen hypoxischen und anoxischen Bedingungen.
Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforschung 27, 76 (1961)
- THORN, W.: Oxydative Phosphorylierung, Kohlehydratgehalt und Paraaminohippursäureclearance in der Niere nach Ischaemie und Erholung.
in: Acutes Nierenversagen, Stuttgart, Thieme 1962
- THORN, W., HEIMANN, J., MÜLDENER, B. und G. GERCKEN:
Zum Stoffwechsel von Leber, Niere, Herz und Skelettmuskulatur in Asphyxie, Anoxie und bei Hypothermie.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 265, 34 (1957)
- THORN, W., JACOBS, G., SCHOLL, H., MÜLDENER, B. und M. WUPPERMANN:
Die Wirkung von 2,6 - bis (diaethanolamino) - 4,8 - dipiperidino-pyrimido- (5,4-d) pyrimidin und dem Glucuronid dieser Substanz auf Blutdruck, Metabolitgehalt des Blutes, der Leber und des Herzmuskels.
Arzneim.-Forsch. 12, 606 (1962)
- THORN, W., JACOBS, G., LAPP, H. und P. v. WICHERT: Metabolische und histologische Untersuchungen in Nieren nach 2 und 3 Stunden Ischaemie und Wiederdurchblutungszeiten bis zu 20 Tagen.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 276, 1 (1962)
- THORN, W. und F. LIEMANN: Metabolitkonzentrationen in der Niere und Paraaminohippursäureclearance nach acuter Ischaemie und in der Erholung nach Ischaemie.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 273, 258 (1961)
- THORN, W. und E. W. BUSCH: RNS- und Metabolitgehalte in Warmblüterorganen nach unterschiedlicher acuter oder chronischer Belastung.
Biochem. Z. 339, 112 (1963).

- THURAU, K., DEETJEN, F. und I. RANKE: Tubulusdruck und Harnausscheidung der Rattenniere im haemorrhagischen Schock.
in: *Acutes Nierenversagen*.
Stuttgart, Thieme-Verlag, 1962
- ULLMANN, E.: Experimentelle Nierentransplantation.
Wien, *Klin. Wochr.* 15, 281 (1902)
- ULLRICH, K.J.: Lokalisation des Stofftransports in der Niere.
Nierensymposium Göttingen, 1959, Thieme-Verlag
Stuttgart 1960
- ULLRICH, K.J. und G. PEHLING: Über das Vorkommen von Phosphorverbindungen in verschiedenen Nierenabschnitten und Änderungen ihrer Konzentration in Abhängigkeit vom Diuresezustand.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 262, 551 (1956)
- ULLRICH, K.J. und G. PEHLING: Aktiver Natriumtransport und Sauerstoffverbrauch in der äußeren Markzone der Niere.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 267, 207 (1958)
- ULLRICH, K.J., HILGER, H.H. und J.D. KLÜMPER: Sekretion von Ammoniumionen in den Sammelrohren der Säugetierniere.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 267, 244 (1958)
- ULLRICH, K., und F. EIGLER: Sekretion von Wasserstoffionen in den Sammelrohren der Säugetierniere.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 267, 791 (1958)
- UNGER, E.: Über Nierentransplantationen.
Berlin.Klin. Wochr. 46, 1056 (1909)
- UNGER, E.: Nierentransplantationen.
Dtsch. Med. Wochr. 35, 905 (1909)
- UNGER, E.: Über Nierentransplantationen.
Ztschr. Chir. 37, H. 31, 26 (1910)
- VAHLENSIECK, W., KOCH, W. und ST. GÖDDE: Technik und Ergebnisse tierexperimenteller Nierentransplantationen.
Langenbecks Arch. Klin.Chir. 308, 803 (1964)
- VILLARD, E. et L. TAVERNIER: La transplantation du rein.
Presse med. 18, 489 (1910)
- VOGELL, W., VOSS, R., SCHOEN, H.R. und BECKER, W.H.: Elektronenmikroskopische und cytochemische Befunde am Papillarmuskel des Kaninchenherzens nach Sauerstoffentzug.
Acta histochemica (Jena) 19, 234 (1964)

- VOSS, R., L'ALLEMAND, H. und F.X. EISENREICH: Hypothermie bei pharmakologischer Drosselung der Schilddrüse.
Langenbecks Arch. Klin.Chir. 289, 319 (1958)
- VOSS, R. und H.R. SCHOEN: Verlängerung der Kreislaufunterbrechung in Hypothermie durch pharmakologische Vorbehandlung.
Thoraxchirurgie, 13, 29 (1965)
- VOSS, R., SCHOEN, H.R., BETTGE, S. und W.H. BECKER:
Der Einfluß von Hexamethyldiaminoisopropanoldi-jodid auf das Verhalten energiereicher Phosphorverbindungen in Herzmuskel und Gehirn nach Asphyxie.
Z. Ges. exper. Med. 137, 511 (1963).
- VOSS, R. und H.R. SCHOEN: Pharmakologische Stoffwechselbeeinflussung zur Verlängerung der Wiederbelebenszeit bei Sauerstoffmangel in Normothermie.
Helgolänger Wiss. Meeresunters. 14, 407 (1966)
- VOSS, R., SCHOEN, H.R. und K. RULLE: Stoffwechselverhalten der Niere während der Ischaemie. Folgerungen für die Organkonservierung.
Z. Ges. exper. Med. 143, H. 3/4 (1967)
- WEZLER, K.: Diastolischer Tonus und Kontraktilität des Herzens.
Verh. Dtsch. Ges. innm Med. 70, 14 (1964)
- WOLLENBERGER, A.: Über den tatsächlichen Orthophosphat- und N-Phosphokreatinegehalt des Säugetierherzens.
Pflüger Arch. Ges. Physiol. 270, 413 (1960)
- WOLLENBERGER, A. RISTAU, O. und G. SCHOFFA: Eine einfache Technik der extrem schnellen Abkühlung größerer Gewebstücke.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 270, 399 (1960)
- WHITTAM, R. und R.A. DAVIES: Relations between metabolism and the rate of turnover of sodium and potassium in guinea pig Kidney-cortex slices.
Biochem. J. 56, 445 (1954).

Herrn Professor Dr. K. Vosschulte bin ich für die Erlaubnis die Einrichtungen der Chirurgischen Klinik bei meinen Experimenten zu benutzen, zu Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. Hj. Staudinger möchte ich ebenso, wie Herrn Professor Dr. W. Vogell, Marburg, für ihre kritischen Hinweise zur Methodik und Interpretation der Ergebnisse sehr herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Ruile und Herrn Dr. Wildberger für ihre Unterstützung bei der Durchführung der Transplantation, und Herrn Dipl. Mathematiker K.G. Liebrich, Biberach/ Riss für die Vornahme der aufwendigen statistischen Berechnungen meiner Versuchsergebnisse.

Herzlich danken möchte ich der Med.-techn. Assistentin Frl. Rosemarie Hildebrand für die exakte Durchführung und Auswertung der chemisch-analytischen Untersuchungen.

Die Durchführung der Experimente und die Anfertigung der vorliegenden Arbeit wurden durch großzügige Sachhilfen der Pharmazeutischen Industrie erst möglich.

Schreibdruck in Spezialschrift

Chemoprint^{OHG}

Gießen